

FLAVIA GALVAN TEDESCO

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS EM
Thaumastocoris peregrinus (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) E SEU
PARASITOIDE DE OVOS *Cleruchoides noackae* (HYMENOPTERA:
MYMARIDAE)**

Botucatu

2022

FLAVIA GALVAN TEDESCO

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS EM
Thaumastocoris peregrinus (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) E SEU
PARASITOIDE DE OVOS *Cleruchoides noackae* (HYMENOPTERA:
MYMARIDAE)**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia-Proteção de Plantas.

Orientador: Carlos Frederico Wilcken

Botucatu

2022

T256b

Tedesco, Flavia Galvan

Bioatividade de extratos etanólicos de anonáceas em *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) e seu parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) / Flavia Galvan Tedesco. -- Botucatu, 2022
60 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Carlos Frederico Wilcken

1. extratos botânicos. 2. proteção florestal. 3. percevejo
bronzado. 4. parasitoide de ovos. 5. anonaceae. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS EM *Thaumastocoris peregrinus* (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) E SEU PARASITOIDE DE OVOS *Cleurochoides noackae* (HYMENOPTERA: MYMARIDAE)

AUTORA: FLAVIA GALVAN TEDESCO

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO WILCKEN


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu UNESP


Prof. Dr. FABRÍCIO FAGUNDES PEREIRA (Participação Virtual)
/ Universidade Federal da Grande Dourados


Pesquisador Dr. EVERTON PIRES SOLIMAN (Participação Virtual)
Tecnologia e Inovação / Suzano Papel e Celulose


Prof. Dr. MICHELE POTRICH (Participação Virtual)
Coordenação de Ciências Biológicas / Universidade Tecnológica Federal do Paraná


Pesquisador Dr. MURICI CARLOS CANELARIA (Participação Virtual)
Biotecnologia Florestal / Suzano Papel e Celulose

Botucatu, 22 de fevereiro de 2022

Aos meus amados pais,
Lourdes Galvan Tedesco e Jossimar Tedesco,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken pela orientação, paciência, conselhos e por confiar em meu trabalho, o senhor é um exemplo de ser humano e profissional.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin, pelo fornecimento dos extratos, pelas conversas e por todo apoio durante a execução desta pesquisa.

Ao IPEF por todo auxílio e apoio financeiro para desenvolvimento deste trabalho.

A minha família, meus queridos pais Lourdes e Jossimar Tedesco por todo amor, carinho e apoio incondicional, mesmo distantes sempre buscaram o melhor para que eu pudesse realizar meus sonhos, obrigada por tudo que fizeram para que eu chegasse até aqui, vocês são os melhores exemplos que eu tenho na vida. Meu irmão Douglas Galvan Tedesco pelas conversas, risadas e por todo amor que me transmitia, você é e sempre será meu melhor amigo. Ao Mateus Xavier de Alencar, por todo amor, carinho e paciência que teve comigo nesse período, pelas longas viagens a Botucatu para auxiliar em meus experimentos, e pelas madrugadas que ficou ao meu lado enquanto escrevia este trabalho. Amo vocês família!

Aos meus amigos do LCBPF pelo convívio e pelos apoios prestados durante o desenvolvimento deste trabalho. Em especial a Claudinéia Fernanda Paes Fogaça pela amizade e por todo apoio que sempre me forneceu para que eu pudesse visitar minha família no Paraná.

Ao meu querido amigo Murilo Fonseca Ribeiro que sempre esteve ao meu lado, obrigada por sua amizade você é um ser humano incrível.

A minha amiga Luísa Piovesan Fabbris pela amizade que construímos e por todo apoio e auxílio nos experimentos, pelas madrugadas que me ajudou no departamento e por tudo que sempre fez para que esta pesquisa fosse realizada.

Aos meus colegas de trabalho da Tecnologia Florestal da Eldorado Brasil, por todo apoio e incentivo. Em especial a Brigida Maria dos Reis Teixeira Valente e ao Eduardo Leal de Oliveira Camargo que sempre prestaram suporte para este trabalho fosse finalizado.

A todas as pessoas que de forma direta ou indireta ajudaram para que este trabalho fosse concluído.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

Thaumastocoris peregrinus Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), o percevejo bronzeado do eucalipto é considerado uma das principais pragas sugadoras do eucalipto, sendo manejado majoritariamente por produtos químicos e parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae). Buscando alternativas para o controle de pragas florestais e a possibilidade de utilização destes extratos no MIP (manejo integrado de pragas) juntamente com os parasitoides, a bioatividade dos extratos de *Annona mucosa* Jacq., *Annona muricata* L. e *Annona sylvatica* A. St.-H., foi avaliada sobre adultos e ninfas de *T. peregrinus* e sobre o parasitoide *C. noackae*, e comparados ao inseticida comercial botânico à base de limonoides (Azamax[®]) e a bifentrina (Capture[®]), por meio de ensaios de laboratório. Nos ensaios preliminares (screening) sobre *T. peregrinus* os extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 12,5 mg.L⁻¹ para adultos e ninfas respectivamente, podem ser comparados ao inseticida sintético Capture[®] utilizado como controle positivo. Posteriormente, foram testadas as CL₅₀ e CL₉₀ dos extratos sobre adultos (0, 0,11, 0,22, 0,33, 0,44, 0,55, 0,66, 0,77, 0,88 e 1%) e ninfas (0, 0,0357, 0,071, 0,107, 0,14, 0,178, 0,21 e 0,25%) de *T. peregrinus*, sendo então observadas concentrações baixas para tal, em adultos de *T. peregrinus*, a CL₅₀ dos extratos *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* apresentaram concentrações-resposta de 7,5 mg.L⁻¹, 41,5 mg.L⁻¹ e 5,1 mg.L⁻¹ respectivamente, e CL₉₀ de 19,2 mg.L⁻¹, 127,8 mg.L⁻¹ e 14,5 mg.L⁻¹ respectivamente. Para ninfas de *T. peregrinus*, a CL₅₀ dos extratos de *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* foi de 3,6 mg.L⁻¹, 7,3 mg.L⁻¹ e 1,7 mg.L⁻¹ respectivamente, a CL₉₀ foi de 10,1 mg.L⁻¹, 23,0 mg.L⁻¹ e 5,9 mg.L⁻¹ na mesma ordem. Os tempos letais para matar 50% da população de adultos e ninfas também foram testados, para adultos de *T. peregrinus*, o extrato de *A. mucosa* apresenta TL₅₀ de 10 horas nas concentrações de 0,44%, 0,55%, 0,66%, 0,77%, 0,88% e 1%, já para ninfas o menor TL₅₀ foi atingido pelo extrato de *A. mucosa* em 3 horas, na concentração de 0,18%. Para o teste de preferência de infestação com chance de escolha, testado na CL₅₀ de cada um dos três extratos observa-se uma preferência dos insetos adultos de *T. peregrinus* pelas folhas tratadas com água destilada esterilizada. Quanto aos extratos de *A. sylvatica* e *A. muricata* sobre *C. noackae*, estes foram aplicados nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 12,5 mg.L⁻¹, e

então avaliados por 24 horas. Ao final do teste nota-se que os extratos de *A. sylvatica* e *A. muricata* reduziram a sobrevivência do parasitoide de ovos pois causam mortalidade destes em até 12 horas após aplicação. Para o teste pré parasitismo, é possível observar que existe um efeito dos tratamentos sobre o parasitismo, pois não existiu emergência de *C. noackae* após 15 dias de aplicação. No teste de pós parasitismo, houve emergência de *C. noackae* nas duas testemunhas e nos tratamentos *A. sylvatica* 12,5 mg.L⁻¹, *A. muricata* 12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹, não existiu emergência de insetos nos tratamentos de *A. sylvatica* 50 mg.L⁻¹ e Capture[®]. Os resultados evidenciam o potencial dos extratos etanólicos de sementes de *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* para o controle de adultos e ninfas de *T. peregrinus*. No entanto, os extratos de *A. sylvatica*, *A. muricata* afetam a sobrevivência e a emergência de *C. noackae* necessitando de mais estudos para a utilização dos dois métodos de controle de *T. peregrinus* de forma associada.

Palavras-chave: extratos botânicos; proteção florestal; percevejo bronzeado; parasitoide de ovos; anonaceae

ABSTRACT

Thaumastocoris peregrinus Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), the eucalyptus bronze bug is considered one of the main sucking pests of eucalyptus, being managed mainly by chemicals and egg parasitoid *Cleruchoides noackae* Lin. and Huber (Hymenoptera: Mymaridae). Looking for alternatives to control forest pests and the possibility of using these extracts in integrated pest management together with parasitoids, the bioactivity of extracts from *Annona mucosa* Jacq., *Annona muricata* L, and *Annona sylvatica* A. St.-H., was evaluated on adults and nymphs of *T. peregrinus* and on the parasitoid *C. noackae*, and compared to the commercial botanical insecticide based on limonoids (Azamax[®]) and bifenthrin (Capture[®]), through laboratory tests. In the preliminary tests (screening) on *T. peregrinus* extracts of *A. mucosa*, *A. muricata* and *A. sylvatica* at concentrations of 50 mg.L⁻¹ and 12.5 mg.L⁻¹ for adults and nymphs respectively, can be compared to the Capture[®] synthetic insecticide used as a positive control. Subsequently, the LC₅₀ and LC₉₀ of the extracts on adults were tested (0, 0.11, 0.22, 0.33, 0.44, 0.55, 0.66, 0.77, 0.88 and 1%) and nymphs (0, 0.03, 0.07, 0.10, 0.14, 0.17, 0.21 and 0.25%) of *T. peregrinus*, being then observed low concentrations for this, in adults of *T. peregrinus*, at LC₅₀ of the extracts *A. sylvatica*, *A. muricata* and *A. mucosa* showed response concentrations of 7.5 mg.L⁻¹, 41.5 mg.L⁻¹ and 5.1 mg.L⁻¹ respectively, and LC₉₀ of 19.2 mg.L⁻¹, 127.8 mg.L⁻¹ and 14.5 mg.L⁻¹ respectively. For *T. peregrinus* nymphs, the LC₅₀ of extracts of *A. sylvatica*, *A. muricata* and *A. mucosa* was 3.6 mg.L⁻¹, 7.3 mg.L⁻¹ and 1.7 mg.L⁻¹ respectively, the LC₉₀ was 10.1 mg.L⁻¹, 23.0 mg.L⁻¹ and 5.9 mg.L⁻¹ in the same order. The lethal times to kill 50% of the population of adults and nymphs were also tested, for adults of *T. peregrinus*, the extract of *A. mucosa* has a TL₅₀ of 10 hours at concentrations of 0.44%, 0.55%, 0.66%, 0.77%, 0.88% and 1%, while for nymphs the lowest TL₅₀ was reached by *A. mucosa* extract in 3 hours, at a concentration of 0.18%. For the free-choice infestation preference test, tested at the LC₅₀ of each of the three extracts, a preference of adult *T. peregrinus* insects for leaves treated with sterilized distilled water was observed. As for the extracts of *A. sylvatica* and *A. muricata* on *C. noackae*, they were applied at concentrations of 50 mg.L⁻¹ and 12.5 mg.L⁻¹, and then evaluated for 24 hours. At the end of the test, it is noted that the extracts of *A. sylvatica* and *A. muricata* reduced the survival of the parasitoid in eggs because they

cause mortality within 12 hours after application. For the pre-parasitism test, it is possible to observe that there is an effect of treatments on parasitism, as there was no emergence of *C. noackae* after 15 days of application. In the post-parasitism test, there was emergence of *C. noackae* in the two controls and in the treatments *A. sylvatica* 12.5 mg.L⁻¹, *A. muricata* 12.5 mg.L⁻¹ and 50 mg.L⁻¹, no there was emergence of insects in the treatments of *A. sylvatica* 50 mg.L⁻¹ and Capture®. However, extracts of *A. sylvatica*, *A. muricata* affect the survival and emergence of *C. noackae* requiring further studies to use the two methods of controlling *T. peregrinus* in an associated way.

Keywords: botanical extracts; forest protection; bronze bug; egg parasitoid; anonaceae

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1 - BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS SOBRE <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE).....	20
1.1 INTRODUÇÃO.....	22
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
1.3 RESULTADOS.....	26
1.4 DISCUSSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO 2- BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS SOBRE <i>Cleruchoides noackae</i> Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae)	42
2.1 INTRODUÇÃO.....	44
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.3 RESULTADOS.....	48
2.4 DISCUSSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS.....	57

INTRODUÇÃO GERAL

O setor de base florestal é evidenciado pelas altas produtividades, melhorias no manejo, responsabilidade social, avançadas instalações e tecnologias incorporadas em todas as áreas que abrange (IBA, 2020). Em 2016 o Brasil liderou o ranking global de produtividade florestal, devido a produtividade média de plantios de eucalipto atingir 35,7 m³/ha ao ano (IBÁ, 2017).

Em 2019 ocorreu uma queda na produtividade, atingindo 35,3 m³/ha ao ano, possivelmente está relacionada as mudanças climáticas, expansão em novas áreas e fatores bióticos e abióticos (IBÁ, 2020). A área ocupada por plantios florestais no Brasil em 2020, foi de 9,55 milhões de hectares, sendo que destes 7,47 milhões de hectares são ocupados pelo eucalipto, o que representa 78% do total de plantios florestais do país (IBÁ, 2021).

Devido o eucalipto ter proximidade taxonômica, morfológica e fisiológica com algumas espécies brasileiras da família Myrtaceae, alguns insetos nativos adaptaram-se ao eucalipto. A baixa heterogeneidade dos grandes plantios aliada a alta disponibilidade de alimento, faz com que ocorram interferências no equilíbrio das populações dos insetos, proporcionando o aumento populacional (CARRANO-MOREIRA, 2014; QUEIROZ; BARBOSA, 2014; EMBRAPA, 2010).

A introdução de insetos exóticos no setor florestal brasileiro vem causando perdas de produtividade (IPEF, 2003). Estes insetos, vem acometendo danos e comprometendo a produção das florestas de eucalipto, um exemplo de inseto-praga exótico é *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae).

Thaumastocoris é um gênero nativo australiano e foi descrito em 1908 por Kirkaldy como *Thaumastocoris australicus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), com quatro outras espécies também descritas. Relatos de *T. australicus* foram registrados na África do Sul em 2003 e na Argentina em 2005. No entanto, com a descrição de Carpintero & Dellapé em 2006, foi confirmado que estes relatos tratavam-se de *T. peregrinus* e não de *T. australicus*. A diferença entre as duas espécies se dá pela morfologia do pronoto, com a presença de tubérculos anterolaterais em *T. peregrinus* e no sentido da genitália do macho (JACOBS; NESSER, 2005; CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006; NOACK; COVIELLA, 2006).

Após a descrição de *T. peregrinus* por Carpintero & Dellapé em 2006, Noack et al., (2011) realizou a revisão do gênero. Neste artigo de revisão os autores citam que os fatores morfológicos utilizados para descrição de *T. peregrinus* podem ser inconsistentes, devido ao fato deste ter sido descrito na Argentina e não se ter levado em consideração as variações existentes nas populações da Austrália, onde o inseto é nativo (NOACK; CASSIS; ROSE, 2011).

Thaumastocoris peregrinus é descrito por sua coloração castanha e hábito gregário, com adultos medindo cerca de 3 mm de comprimento, a proporção sexual deste inseto é quase 1:1 (fêmea: macho), sendo que cada fêmea oviposita em média 60 ovos, os quais tem coloração preta e forma achatada, com período embrionário de aproximadamente seis dias (CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006; JACOBS; NESSER, 2005; SOLIMAN et al., 2012; WILCKEN et al., 2010). O período médio para a primeira oviposição da fêmea a 26°C é de 6,58 dias, sendo esse período maior em temperaturas mais baixas (22°C) ou temperaturas mais altas (30°C) (SOLIMAN et al., 2012).

As ninfas possuem movimentos rápidos e coloração marrom claro, passando para uma coloração mais escura com o passar dos instares, no quarto ínstar inicia-se a formação das asas, sendo queo período ninfal dura de 14 a 20 diasvariando conforme a temperatura (CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006; JACOBS; NESSER, 2005; SOLIMAN et al., 2012; WILCKEN et al., 2010).

A duração total do ciclo para os machos teve um mínimo de 18 dias a 30°C e uma máximo de 205 dias a 14°C, porém para as fêmeas o mínimo foi de 20 dias a 30°C e máximo de 187 dias a 14°C (SOLIMAN, 2010). Temperaturas mais baixas diminuem o desenvolvimento e aumentam a duração do estágio de vida do *T. peregrinus*, sendo consideradas temperaturas ótimas para desenvolvimento e reprodução 18 e 25°C (BARBOSA et al., 2019).

Devido seu aparelho bucal sugador labial, *T. peregrinus* causa danos nas folhas de eucalipto, as quais passam a ficar com aspecto prateado (clorose) reduzindo a área fotossintética, seguindo para uma morfologia bronzeada e, conseqüentemente, ocorrendo a queda das mesmas em casos severos. Estes sintomas alteram toda a coloração da copa das árvores, fazendo com que a presença do percevejo seja observada a distância (BARBOSA et al., 2010; CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006; SOLIMAN et al., 2012; SMANIOTTO et al., 2017; WILCKEN et al., 2010; JACOBS; NESSER, 2005; EMBRAPA, 2012).

Os sintomas observados variam conforme cada material genético, em alguns clones por exemplo não chega a fase de bronzeamento, as folhas caem logo após o prateamento (EMBRAPA, 2012). A planta que sofre um dano pelo inseto acaba desenvolvendo um estresse, sendo assim, estes danos abrem portas para outros agentes fitopatogênicos (LORENCETTI et al., 2015). Os danos causados pelo percevejo bronzeado, fazem com que as plantas percam incremento, e as empresas que desenvolvem papel e celulose, carvão vegetal e madeira para energia, acabam reduzindo matéria prima para abastecimento de suas fabricas (EMBRAPA, 2012).

O percevejo bronzeado possui alta capacidade reprodutiva o que facilitou a disseminação para vários estados do país. Sendo assim hoje sua presença é relatada nos estados de: Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Goiás, Pará e Sergipe (SALIBA et al., 2019; RIBEIRO et al., 2015a; LORENCETTI, et al., 2015; PEREIRA et al., 2013; SAVARIS et al., 2011; BARBOSA et al., 2010; WILCKEN et al., 2010; JACOBS; NESSER, 2005).

Buscando o controle biológico desta praga, *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) é o principal agente de controle biológico do percevejo bronzeado, o microhimenoptero foi encontrado parasitando os ovos de percevejo-bronzeado na Austrália (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007; SOUZA et al., 2016). *Cleruchoides noackae* inviabiliza os ovos do percevejo bronzeado através da postura de seus ovos no interior dos ovos do percevejo (EMBRAPA, 2010; IPEF, 2010; BARBOSA et al., 2017).

Medindo aproximadamente 0,5 milímetros *C. noackae* é considerado uma vespa endoparasitoide de ovos, este inseto possui dorsalmente coloração marrom a marrom claro exceto escutelo que é esbranquiçado ventralmente, a coloração da cabeça varia de marrom-clara a amarelada, com exceção para sulcos e mandíbulas subantenas que são marrom-escuros ou pretos. Diversos estudos buscam identificar o ciclo de vida de *C. noackae* em diferentes temperaturas, sabe-se que este possui um período em fase adulta reduzido e que pode variar de 1,1 a 3,7 dias, sendo que as maiores longevidades são atingidas quando são alimentados com soluções de mel variadas de 100 a 10% (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007; MUTITU et al., 2013; SOUZA et al., 2016).

Analisando o ciclo e as preferências de parasitismo de *C. noackae* testes de desenvolvimento foram realizados, utilizando ovos de diferentes idades e diferentes

períodos de armazenamento. Desta forma, podem ser utilizados para parasitismo ovos de *T. peregrinus* com até três dias de idade e armazenados a 5°C em geladeira por 14 dias (BARBOSA et al., 2018).

O acasalamento de *C. noackae* acontece imediatamente após a fêmea ser localizada pelo macho, de 2-5 segundos, e não existe o comportamento de corte entre os parasitoides. Após copuladas as fêmeas realizam o parasitismo de forma imediata ao encontrarem ovos de *T. peregrinus*, a duração do período de oviposição entre a inserção e a retirada do ovipositor da fêmea é de dois a dez minutos (HAAS et al., 2018a; MUTITU et al., 2013).

Após os relatos de *C. noackae* parasitar apenas espécies do grupo Taumastocorinae, este foi introduzido na América do Sul e África do Sul, com finalidade de controlar as altas densidades populacionais de *T. peregrinus* (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007; NADEL et al., 2010; NADEL; NOACK, 2012). No Brasil este parasitoide foi importado em 2012, com o objetivo de realizar liberações em campo para manejar as populações de *T. peregrinus*. Estudos mostram que *C. noackae* encontra-se estabelecido em campo em algumas regiões do país, e sua porcentagem de parasitismo aproxima-se de 50% (BARBOSA et al., 2017).

Atualmente diversas pesquisas têm buscado formas alternativas para o controle de pragas-florestais, a utilização de extratos botânicos é uma delas. Além da utilização dos extratos para o controle da praga, estes possuem algumas vantagens pois são mais seguros ao ambiente e respeitam os critérios da certificação florestal como o FSC (Forest Stewardship Council) por exemplo. A utilização de extratos botânicos pode ser associada a outros métodos, sempre alinhados aos princípios do MIP (manejo integrado de pragas).

Buscando alternativas aos inseticidas químicos sintéticos, devido aos problemas que estes causam a saúde humana e ao ambiente, a utilização dos extratos botânicos para controle de insetos-praga vem ganhando forças (TUREK; STINTZING, 2013; FERNANDEZ-PEREZ et al., 2014; CASTILLO-SÁNCHEZ; JIMÉNEZ-OSORNIO; DELGADO-HERRERA, 2010). Dentre as famílias de plantas que possuem maior atividade inseticida, pode-se destacar Annonaceae, Canellaceae, Meliaceae, Rutaceae, Labiatae e Asteraceae (JACOBSON, 1989).

Os extratos botânicos podem ser considerados bioinseticidas ou inseticidas naturais, apresentando ação inseticida através de moléculas obtidas do metabolismo secundário dos diversos órgãos das plantas. Em geral os principais metabólitos

produzidos são glicolipídios, glicerolipídios, ácidos graxos, ésteres livres e terpenos (KOUL; WALIA, 2009). Sendo que a família Annonaceae possui como principais metabólitos secundários as acetogeninas, squamocyn e annonacyn, mostrando um forte impacto destes agindo no controle de insetos-praga (CASTILLO-SÁNCHEZ; JIMÉNEZ-OSORNIO; DELGADO-HERRERA, 2010).

Desta forma, buscando novas formas de controle para pragas florestais e a possibilidade de utilização destes extratos no MIP (manejo integrado de pragas) juntamente com os parasitoides, este trabalho busca avaliar a bioatividade de extratos etanólicos provenientes de sementes de *Annona muricata* L., *Annona mucosa* Jacq., e *Annona sylvatica* A. St.-H. sobre ninfas e adultos de *T. peregrinus* e seu parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae*.

CAPÍTULO 1

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS SOBRE *Thaumastocoris peregrinus* (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

RESUMO

Buscando alternativas para o controle de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), a bioatividade dos extratos de *Annona mucosa* Jacq., *A. muricata* L, e *A. sylvatica* A. St.-H., foi avaliada sobre adultos e ninfas de *T. peregrinus* e comparados ao inseticida comercial botânico à base de limonoides (Azamax[®]) e a bifentrina (Capture[®]), por meio de ensaios de laboratório. Nos ensaios preliminares (screening) sobre *T. peregrinus* os extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 12,5 mg.L⁻¹ causam mortalidade de adultos e ninfas respectivamente. Posteriormente, foram testadas as CL₅₀ e CL₉₀ dos extratos sobre adultos e ninfas de *T. peregrinus*, sendo então observadas concentrações baixas para tal. Sobre adultos de *T. peregrinus* a CL₅₀ dos extratos *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* apresentaram concentrações-resposta de 7,5 mg.L⁻¹, 41,5 mg.L⁻¹ e 5,1 mg.L⁻¹ respectivamente. Para ninfas de *T. peregrinus*, a CL₅₀ dos extratos de *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* foi de 3,6 mg.L⁻¹, 7,3 mg.L⁻¹ e 1,7 mg.L⁻¹ respectivamente. Os tempos letais para matar 50% da população de adultos e ninfas também foram testados, para adultos de *T. peregrinus*, o extrato de *A. mucosa* apresenta TL₅₀ de dez horas nas concentrações de 0,44%, 0,55%, 0,66%, 0,77% 0,88% e 1%, já para ninfas o menor TL₅₀ foi atingido pelo extrato de *A. mucosa* em três horas, na concentração de 0,18%. Para o teste de preferência de infestação, com chance de escolha, testado na CL₅₀ de cada um dos três extratos observa-se uma preferência dos insetos adultos de *T. peregrinus* pelas folhas tratadas com água destilada esterilizada. Os resultados deste estudo, evidenciam o potencial dos extratos etanólicos de sementes de *A. sylvatica*, *A. muricata* e *A. mucosa* para o controle de adultos e ninfas de *T. peregrinus*.

Palavras-chave: percevejo-bronzeado; eucalipto; extratos botânicos; proteção florestal; controle de pragas

ABSTRACT

Looking for alternatives to control *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), the bioactivity of extracts of *Annona mucosa* Jacq., *A. muricata* L, and *A. sylvatica* A. St.-H., was evaluated on adults and *T. peregrinus* nymphs and compared to the commercial botanical insecticide based on limonoids (Azamax®) and bifenthrin (Capture®), through laboratory tests. In the preliminary tests (screening) on *T. peregrinus* extracts of *A. mucosa*, *A. muricata* and *A. sylvatica* at concentrations of 50 mg.L⁻¹ and 12.5 mg.L⁻¹ cause mortality of adults and nymphs, respectively. Subsequently, the LC₅₀ and LC₉₀ of the extracts were tested on adults and nymphs of *T. peregrinus*, and low concentrations were observed for this purpose. On *T. peregrinus* adults, the LC₅₀ of extracts *A. sylvatica*, *A. muricata* and *A. mucosa* showed response concentrations of 7.5 mg.L⁻¹, 41.5 mg.L⁻¹ and 5.1 mg.L⁻¹ respectively. For *T. peregrinus* nymphs, the LC₅₀ of extracts of *A. sylvatica*, *A. muricata* and *A. mucosa* was 3.6 mg.L⁻¹, 7.3 mg.L⁻¹ and 1.7 mg.L⁻¹ respectively. The lethal times to kill 50% of the population of adults and nymphs were also tested, for adults of *T. peregrinus*, the extract of *A. mucosa* has a TL₅₀ of ten hours at concentrations of 0.44%, 0.55%, 0, 66%, 0.77%, 0.88% and 1%, while for nymphs the lowest TL₅₀ was reached by the extract of *A. mucosa* in three hours, at a concentration of 0.18%. For the infestation preference test, with chance of choice, tested at LC₅₀ of each of the three extracts, a preference of adult *T. peregrinus* insects for leaves treated with sterilized distilled water was observed. The results of this study show the potential of ethanolic extracts from seeds of *A. sylvatica*, *A. muricata* and *A. mucosa* for the control of adults and nymphs of *T. peregrinus*.

Keywords: bronze bug; eucalyptus; botanical extracts; forest protection; pest management

1.1 INTRODUÇÃO

O percevejo bronzeado do eucalipto, *T. peregrinus*, apresenta coloração castanha com adultos medindo cerca de 3 mm de comprimento e 0,96 mm de largura (CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006). Dentro do complexo de pragas que acometem a cultura do eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellapé, 2006) (Hemiptera: Thaumastocoridae) destaca-se como praga sugadora que pode gerar grandes perdas econômicas (WILCKEN et al., 2021).

Os danos são causados tanto na fase de ninfa quanto na fase adulta, pois sugam a seiva das plantas reduzindo sua taxa fotossintética, as folhas utilizadas para alimentação de *T. peregrinus* começam a apresentar prateamento (clorose), as quais evoluem para uma aparência bronzeada (em alguns clones), com posterior queda das mesmas. (BARBOSA et al., 2010a; SMANIOTTO et al., 2017; WILCKEN et al., 2010).

Diferentes métodos de controle vêm sendo utilizados e testados sobre *T. peregrinus*, o controle químico de pragas florestais geralmente acaba sendo inviável, tanto pela ausência de produtos registrados na ocasião de uma nova praga, ou pelo impacto ambiental associado muitas vezes aos selos de certificação florestal (WILCKEN, et al., 2021). Nesse sentido, novos métodos de controle de insetos-praga vêm sendo testados, o interesse por produtos de origem botânica para o controle de pragas florestais vem crescendo constantemente. Entre as famílias de plantas que possuem maior atividade inseticida, destaca-se Annonaceae, Canellaceae, Meliaceae, Rutaceae, Labiatae e Asteraceae (JACOBSON, 1989).

Os extratos botânicos podem ser considerados bioinseticidas ou inseticidas naturais, pois apresentam ação inseticida através de algumas moléculas que são obtidas a partir do metabolismo secundário dos diversos órgãos das plantas. Em geral os principais metabólitos produzidos são glicolipídios, glicerolipídios, ácidos graxos, ésteres livres e terpenos (KOUL; WALIA, 2009). Sendo que a família Annonaceae possui como principais metabólitos secundários as acetogeninas, squamocyn e annonacyn, mostrando o impacto destes agindo no controle de insetos-praga (CASTILLO-SÁNCHEZ; JIMÉNEZ-OSORNIO; DELGADO-HERRERA, 2010), destaca-se insetos de importância agrícola, das ordens Lepidoptera, Coleoptera e alguns Hemipteras como: *Bemisia tabaci* G. biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) (SOARES et al., 2021), *Diaphorina citri* K. (Hemiptera: Liviidae)

(RIBEIRO et al., 2015) e *Myzus persicae* S. (Hemiptera: Aphididae)(RIBEIRO et al., 2014).

Desta forma, buscando novas formas de controle para pragas florestais, este trabalho teve como objetivo avaliar a bioatividade de extratos etanólicos provenientes de sementes de *A. mucosa* Jacq., *Annona muricata* L. e *A. sylvatica* A. St.-H. sobre adultos e ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Estabelecimento da criação de *Thaumastocoris peregrinus*

Uma criação estoque de *T. peregrinus* foi mantida no Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF) da FCA-UNESP, para suprir a demanda de insetos necessários à realização dos ensaios propostos. Os insetos de *T. peregrinus* utilizados nos experimentos foram obtidos a partir da segunda geração daqueles coletados em campo.

Ninfas e adultos de *T. peregrinus* foram obtidos em ramos de eucalipto infestados em campo, os quais foram removidos, acondicionados em sacos de *voil* e transportados até o LCBPF. Esses ramos foram acomodados em gaiolas (40 x 45 x 80 cm) contendo um buquê com ramos novos de eucalipto para manutenção dos insetos.

A criação foi mantida em sala climatizada ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$, fotofase de 12 h). *T. peregrinus* foi alimentado com ramos do clone 433 (*Eucalyptus urophylla* var. *platyphylla*) obtidos a partir de um talhão existente na Faz. do Lageado da FCA-UNESP em Botucatu, SP. Após coletados, os ramos foram desinfetados com hipoclorito de sódio a 1% e detergente; posteriormente, estes foram alocados em frascos de almotolia 500mL, com água para manter a turgidez dos mesmos, os quais foram trocados a cada três dias.

Fitas de papel toalha, nas quais fêmeas de *T. peregrinus* depositam seus ovos nas irregularidades foram colocadas nos ramos de eucalipto para estimular a oviposição por fêmeas desse inseto. Essas fitas foram trocadas a cada três dias e após a troca, os ovos foram transferidos para caixas do tipo Gerbox (250 mL) e acondicionados em geladeira a 5°C . Os ovos retornam à criação em, no máximo, 20 dias para a manutenção da criação desse inseto.

Obtenção dos extratos e preparo das soluções

Os extratos utilizados nos bioensaios foram fornecidos pelo Laboratório de Resistência de Plantas à Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI) da FCA-UNESP. Esses extratos foram obtidos a partir de sementes de espécies da família Annonaceae, sendo elas *Annona mucosa* Jacq., *Annona muricata* L e *Annona sylvatica* A. St.-H. A preparação dos extratos etanólicos e soluções seguiu a metodologia proposta por Ribeiro et al. (2015) e Brito et al. (2019).

Screening para seleção do extrato promissor sobre *Thaumastocoris peregrinus*

Buscando selecionar o extrato promissor para controle de *T. peregrinus*, foram utilizadas folhas de eucalipto (clone 433) sem tratamento fitossanitário, seguindo por um processo de desinfecção com hipoclorito de sódio a 1% e detergente, onde os ramos permanecem mergulhados durante um período de 10 min. Após secas, as folhas foram direcionadas a montagem do bioensaio.

Os tratamentos utilizados neste bioensaio foram três extratos botânicos (*Annona mucosa*, *Annona muricata* e *Annona sylvatica*), dois controles positivos (Azamax® e Capture 400EC®) e dois controles negativos (água destilada esterilizada e acetona:metanol). Em seguida, cada um dos extratos foi diluído em uma solução solvente de acetona:metanol (1:1, v.v⁻¹) e a solução final pulverizada sobre as folhas de *Eucalyptus urophylla* var. *platyphylla*, com auxílio de um aerógrafo profissional BD134K e uma bomba de pressão constante sob pressão de 0,5 kgf/cm².

Para cada um dos tratamentos, o volume de pulverização foi de 0,14mL de solução final por folha (ponto de escoamento). A concentração dos extratos utilizada nos bioensaios foi de 12,5 mg.L⁻¹ para ninfas de terceiro ínstar e de 50 mg.L⁻¹ para adultos (não sexados) de *T. peregrinus*.

Após a aplicação dos tratamentos e as folhas estarem secas, o pecíolo das mesmas foi acondicionado em frascos de vidro (5mL) contendo água para manter a turgidez das mesmas. Em seguida, estes frascos foram acondicionados em recipientes plásticos (1L) e então infestados com dez indivíduos de *T. peregrinus*, os quais foram transferidos sobre as folhas de eucalipto, com auxílio de um pincel fino n°0.

Este bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), onde cada um dos sete tratamentos foi avaliado em cinco recipientes,

contendo uma folha de *Eucalyptus urophylla* var. *platyphylla* com 10 insetos cada (n=50), cada recipiente com folhas infestadas foi considerado uma repetição. Os bioensaios foram realizados individualmente com adultos e com ninfas de terceiro instar de *T. peregrinus*, com idade e origem controladas. Os recipientes contendo os tratamentos e os insetos foram vedados com tecido *voil*, identificados e, posteriormente, transferidos para uma sala climatizada (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h). A mortalidade dos insetos foi avaliada a cada 24 horas por um período de sete dias.

Curva de concentração-resposta do extrato promissor sobre *Thaumastocoris peregrinus*

Baseado nos resultados do *screening*, os extratos foram novamente avaliados juntamente com os controles positivos, a fim de se estimar a CL₅₀ e CL₉₀ (concentrações necessárias para matar 50 e 90% dos insetos) para *T. peregrinus*.

Foram utilizadas oito concentrações de cada tratamento, para ninfas (0, 0,03, 0,07, 0,10, 0,14, 0,17, 0,21 e 0,25%) e dez concentrações de cada tratamento, para adultos (0, 0,11, 0,22, 0,33, 0,44, 0,55, 0,66, 0,77, 0,88 e 1%) definidas por meio da fórmula proposta por Finney (1971). O delineamento experimental e os bioensaios foram os mesmos descritos no *screening*. Os testes foram realizados com adultos (não sexados) e ninfas de terceiro instar de *T. peregrinus* e as avaliações de mortalidade realizadas a cada 24h por um período de sete dias. Foram considerados mortos aqueles que não responderem ao toque de um pincel fino nº0.

Tempo letal médio

O TL₅₀ (tempo letal médio para matar 50% dos insetos de *Thaumastocoris peregrinus*) foi estimado utilizando todas as concentrações do teste de CL₅₀ e CL₉₀. Os procedimentos para este bioensaio seguiram os mesmos critérios já descritos no *screening*. A avaliação da mortalidade foi realizada durante os períodos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66 e 72h após aplicação, totalizando assim, três dias de avaliação.

Preferência para infestação

A fim de avaliar o efeito dos extratos quanto à preferência para infestação de *T. peregrinus* foi realizado um teste com chance de escolha. A preferência para

infestação foi avaliada em folhas de eucalipto (clone 433) contendo extrato na CL₅₀ previamente estimada. As aplicações dos tratamentos sobre os ramos de eucalipto seguiram a metodologia descrita anteriormente. Os tratamentos foram CL₅₀ dos extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*. e água destilada esterilizada.

Após 15 minutos da aplicação dos tratamentos, as folhas foram isoladas em pares, em gaiolas circulares (80 x 37 x 45 cm) sempre contendo uma folha tratada e uma testemunha. No centro das gaiolas foram liberados 50 insetos adultos (não sexados) de *T. peregrinus*.

As avaliações da preferência de infestação foram realizadas nos tempos de 15 min, 30min, 45min, 1h, 2h, 3h, 6h, 24 e 48h após liberação, visando verificar possíveis efeitos repelentes dos tratamentos. Cada gaiola contendo folhas tratadas e não tratadas após infestação foi considerada uma repetição, totalizando cinco para cada tratamento.

Análises estatísticas

Os dados do screening foram submetidos a análise de variância por postos (ANOVA on ranks). As estimativas das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) foram realizadas em modelo binomial com função de ligação complemento log-log utilizando-se a análise Probit. Esses testes foram realizados com o software estatístico "R", versão 2.15.1 (R Development Core Team, 2012).

Por meio da curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, foi possível estimar os tempos necessários para causar a mortalidade de 50% dos indivíduos em cada concentração testada. Para determinar a preferência de infestação entre os tratamentos ao longo do tempo foi utilizado o teste t-Student ($p < 0,05$). Para estes testes, foi utilizado o software SigmaPlot 11.0.

1.3 RESULTADOS

Screening para seleção do extrato promissor sobre *Thaumastocoris peregrinus*

Os extratos etanólicos provenientes de sementes de Anonaceas, apresentaram potencial inseticida para adultos e ninfas de *T. peregrinus*. Em ninfas e adultos de *T. peregrinus* a ação inseticida dos extratos etanólicos de Anonaceas foi maior que do bioinseticida utilizado como controle positivo (Azamax[®] 1.2 EC), que só foi eficaz no controle de adultos (Tabela 1). Em adultos de *T. peregrinus*, quando

testados em concentração de 50 mg.L⁻¹, os extratos de *A. mucosa* e *A. sylvatica* proporcionaram mortalidade de 100% dos insetos, apenas *A. muricata* causou porcentagem de mortalidade de 98%, ainda assim, sendo efetivo para o controle desta praga florestal.

Tabela 1 - Número médio de adultos de *T. peregrinus* mortos após sete dias da pulverização dos tratamentos

Tratamentos	Média (± EP)
Água	0,4 (±0,24) c
Solvente	0,4 (± 0,40) c
<i>A. mucosa</i>	10 (± 0,00) a
<i>A. muricata</i>	9,8 (± 0,20) ab
<i>A. sylvatica</i>	10 (± 0,00) a
Azamax	8 (± 1,05) b
Capture	10 (± 0,00) a
CV (%)	19,91
P valor	<0.001

Análise de variância por postos (ANOVA on ranks) dos extratos etanólicos (*A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*), testemunhas (água, solvente) e químico (capture).

Os extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* utilizados, causaram mortalidade completa das ninfas (Tabela 2), quando testados em concentração de 12,5 mg.L⁻¹ diferindo estatisticamente dos dois controles negativos (água destilada e acetona:metanol). O bioinseticida utilizado como controle positivo Azamax[®] 1.2 EC, causou média de mortalidade de apenas 4,8 dos insetos, diferindo dos tratamentos com extratos e dos controles negativos.

Tabela 2 - Número médio de ninfas de *T. peregrinus* mortos após sete dias da pulverização dos tratamentos

Tratamentos	Média (± EP)
Água	0,2 (± 0,20) c
Solvente	0 (± 0,00) c
<i>A. mucosa</i>	10 (± 0,00) a
<i>A. muricata</i>	10 (± 0,00) a
<i>A. sylvatica</i>	10 (± 0,00) a
Azamax	4,8 (± 2,13) b
Capture	10 (± 0,00) a
CV (%)	13,36
P valor	<0,001

Análise de variância por postos (ANOVA on ranks) dos extratos etanólicos (*A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*), testemunhas (água, solvente) e químico (capture).

Em ninfas todos os extratos botânicos testados causaram mortalidade de 100% dos insetos, e a porcentagem mais baixa de mortalidade em adultos foi de 98% para *A. muricata*. Portanto, os três extratos (*A. mucosa*, *A. muricata* e *A.*

sylvatica) continuaram sendo testados nos testes de curva de concentração-resposta, tempo letal médio e preferência para infestação.

Curva de concentração-resposta do extrato promissor sobre *Thaumastocoris peregrinus*

A concentração-resposta da CL₅₀ dos extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* sobre adultos de *T. peregrinus* foi de 5,1 mg.L⁻¹, 41,5 mg.L⁻¹ e 7,5 mg.L⁻¹ respectivamente. E a CL₉₀ calculada utilizando os mesmos extratos foi de 14,5 mg.L⁻¹, 127,8 mg.L⁻¹ e 19,2 mg.L⁻¹ respectivamente (Tabela 3).

Para ninfas de *T. peregrinus*, a CL₅₀ dos extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* foi de 1,7 mg.L⁻¹, 7,3 mg.L⁻¹ e 3,6 mg.L⁻¹ respectivamente. A CL₉₀ obteve valores para a concentração-resposta de 5,9 mg.L⁻¹, 23,0 mg.L⁻¹ e 10,1 mg.L⁻¹ na mesma ordem (Tabela 4).

Tabela 3 - Concentração-resposta de extrato etanólico de sementes de *Annona sylvatica* e *Annona muricata* e *Annona mucosa* em adultos de *Thaumastocoris peregrinus* após dois dias de aplicação

Tratamento	N	Inclinação (±EP)	CL (IC ₉₅) mg.L ⁻¹ *		X ² (df)	p-valor
			CL ₅₀	CL ₉₀		
<i>A. sylvatica</i>	500	3.15 (2.18 ± 4.11)	7,5 (5,9 ± 9,0)	19,2 (16,3 ± 23,4)	14.766 (8)	0.936
<i>A. muricata</i>	350	2.62 (-1.17 ± 6.41)	41,5 (33,8 ± 59,3)	127,8 (18,02 ± 374,9)	61.748 (5)	1
<i>A. mucosa</i>	500	2.82 (1.61 ± 4.02)	5,1 (3,4 ± 6,5)	14,5(11,9 ± 18,3)	19.441 (8)	0.987

N: Número de insetos utilizados; IC: Intervalo de confiança; X₂: Chi-quadrado; (*): Diferença significativa com base nos intervalos de confiança a 95% de probabilidade. df graus de liberdade.

Tabela 4 - Concentração-resposta de extrato etanólico de sementes de *Annona sylvatica* e *Annona muricata* e *Annona mucosa* sobre ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* após dois dias de aplicação

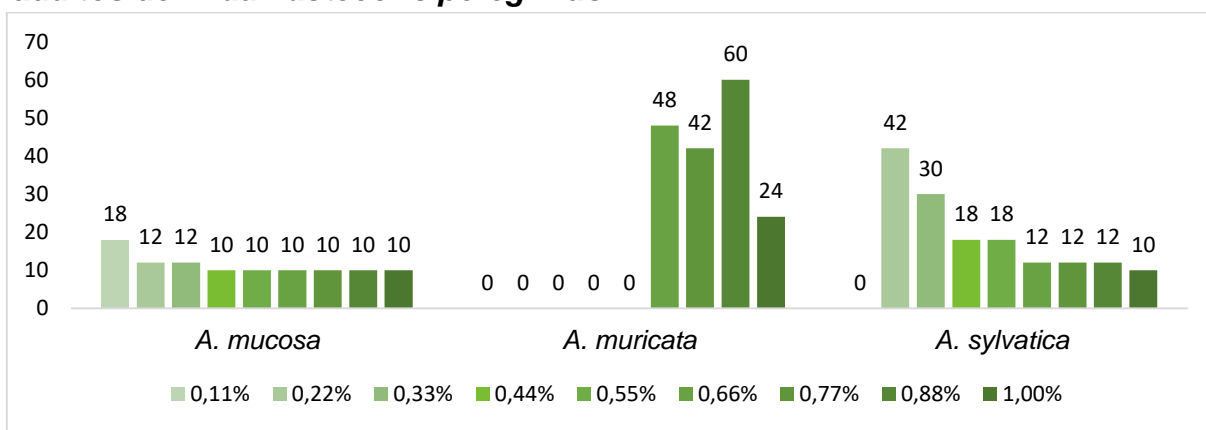
Tratamento	N	Inclinação (±EP)	CL (IC ₉₅) mg.L ⁻¹ *		X ² (df)	p-valor
			CL ₅₀	CL ₉₀		
<i>A. sylvatica</i>	400	2.90 (1.24 ± 4.55)	3,6 (2,9± 4,3)	10,1 (8,3 ± 13,4)	29.565 (6)	0.999
<i>A. muricata</i>	350	2.58 (0.18 ± 4.99)	7,3 (5,4 ± 19,9)	23,0 (11,7 ± 49,50)	6.092 (3)	0.893
<i>A. mucosa</i>	400	2.40 (0.99 ± 3.81)	1,7 (1,0 ± 2,3)	5,9 (4,7 ± 8,0)	17.954 (6)	0.994

N: Número de insetos utilizados; IC: Intervalo de confiança; X₂: Chi-quadrado; (*): Diferença significativa com base nos intervalos de confiança a 95% de probabilidade. df graus de liberdade.

Tempo letal médio

A sobrevivência de adultos *T. peregrinus* foi reduzindo ao longo do tempo, sendo gradativa e concomitante com o aumento das concentrações. Para os extratos de *A. muricata* e *A. sylvatica* só foi possível calcular TL₅₀ a partir da concentração de 0,66 e 0,22% respectivamente, já o extrato de *A. mucosa* foi o único que apresentou TL₅₀ desde a primeira concentração testada (0,11%) (Figura 1).

Figura 1 - Avaliação de tempo letal das concentrações de extratos etanólicos de sementes de *Annona mucosa* e *Annona muricata* e *Annona sylvatica* em adultos de *Thaumastocoris peregrinus*.



Para adultos de *T. peregrinus*, o extrato de *A. mucosa* apresenta valores de TL₅₀ baixos quando comparado com os outros extratos, sendo que este estabiliza em 10 horas na concentração de 0,44%.

Tabela 5 - Tempo letal médio das concentrações de extratos etanólicos de sementes de *Annona mucosa* e *Annona muricata* e *Annona sylvatica* em adultos de *Thaumastocoris peregrinus*

Concentração (%)	Tratamentos	N	TL ₅₀ (h) (IC ₉₅)	X ²	df	p-valor
0,11%	<i>A. mucosa</i>	50	18,0 (15,41±20,59)	178,119	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	-			
0,22%	<i>A. mucosa</i>	50	12,0 (9,59±14,41)	167,766	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	42,0 (36,75±47,25)			
0,33%	<i>A. mucosa</i>	50	12,0 (10,98±13,02)	165,242	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	30,0 (25,93±34,07)			
0,44%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (8,80±11,20)	135,168	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	18,0 (16,09±19,91)			
0,55%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (8,87±11,13)	129,569	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	18,0 (16,28±19,72)			
0,66%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (8,99±11,01)	107,907	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	48,0 (36,21±59,79)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	12,0 (11,36±12,64)			
0,77%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (8,89±11,11)	111,687	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	42,0 (36,14±47,86)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	12,0 (10,75±13,25)			
0,88%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (8,77±11,22)	117,238	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	60,0 (50,95±69,05)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	12,0 (11,11±12,89)			
1,00%	<i>A. mucosa</i>	50	10,0 (9,03±10,97)	88,805	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	24,0 (21,28±26,71)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	10,0 (9,01±10,99)			

N: número de insetos utilizados; TL₅₀: tempo letal médio; IC: intervalo de confiança; df: graus de liberdade

O TL₅₀ do extrato de *A. sylvatica* para ninfas de terceiro instar de *T. peregrinus* pode ser calculado a partir da concentração de 0,14%, para *A. muricata* na concentração de 0,18% e para *A. mucosa* pode ser calculado desde a primeira concentração testada (0,04%) (Figura 2).

O menor TL₅₀ foi atingido pelo extrato de *A. mucosa* (três horas), na concentração de 0,18% sendo estabilizado nas concentrações seguintes. O maior TL₅₀ registrado foi para *A. muricata* (60 horas), nas concentrações de 0,18% e 0,21%.

Figura 2 - Avaliação de tempo letal das concentrações de extratos etanólicos de sementes de *Annona mucosa* e *Annona muricata* e *Annona sylvatica* em ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*.

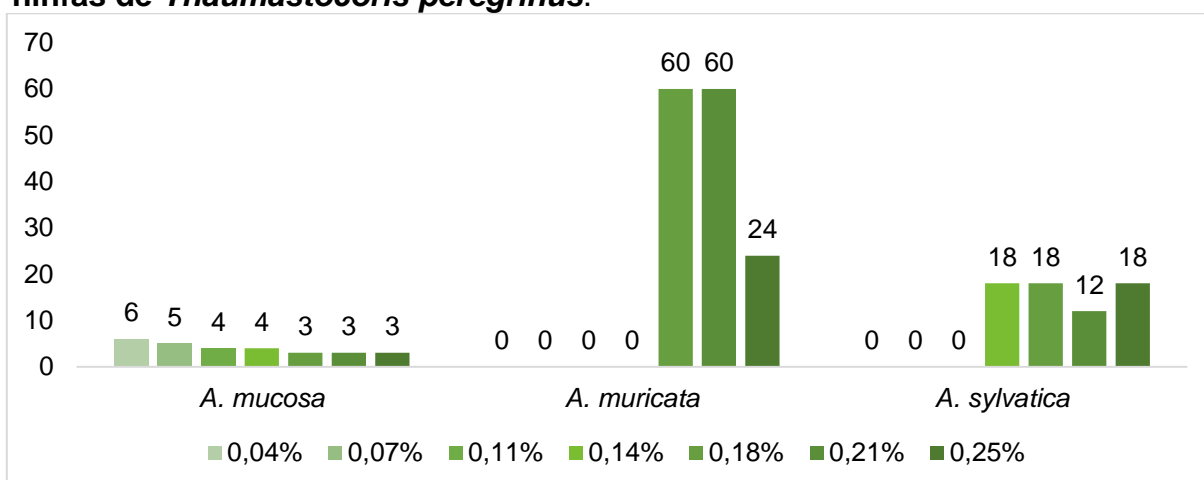


Tabela 6 - Tempo letal médio das concentrações de extratos etanólicos de sementes de *Annona mucosa* e *Annona muricata* e *Annona sylvatica* sobre ninfas de terceiro instar de *Thaumastocoris peregrinus*

Concentração (%)	Tratamentos	N	TL ₅₀ (h) (IC ₉₅)	X ²	df	p-valor
0,04%	<i>A. mucosa</i>	50	6,0 (4,47±7,53)	198,259	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	-			
0,07%	<i>A. mucosa</i>	50	5,0 (3,96±6,04)	198,131	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	-			
0,11%	<i>A. mucosa</i>	50	4,0 (3,27±4,73)	204,086	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	-			
0,14%	<i>A. mucosa</i>	50	4,0 (3,40±4,60)	202,933	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	-			
	<i>A. sylvatica</i>	50	18,0 (13,38±22,62)			
0,18%	<i>A. mucosa</i>	50	3,0 (2,73±3,26)	197,170	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	60,0 (54,46±65,54)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	18,0 (15,94±20,06)			
0,21%	<i>A. mucosa</i>	50	3,0 (2,69±3,31)	165,881	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	60,0 (32,64±87,36)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	12,0 (9,14±14,84)			
0,25%	<i>A. mucosa</i>	50	3,0 (2,39±3,61)	135,092	2	<0,001
	<i>A. muricata</i>	50	24,0 (15,68±32,31)			
	<i>A. sylvatica</i>	50	18,0 (14,33±21,67)			

N: número de insetos utilizados; TL₅₀: tempo letal médio; IC: intervalo de confiança; df: graus de liberdade

Preferência para infestação

Com relação ao teste de preferência de infestação com chance de escolha, no extrato de *A. mucosa*, foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos nos tempos de 0,75, 1, 2 e 12 horas, houve uma preferência de infestação superior na testemunha em relação a CL₅₀ de *A. mucosa*. A maior diferença de infestação entre os tratamentos ocorreu as 0,75 horas após liberação dos insetos adultos de *T. peregrinus* (Figura 3) (Tabela 7).

Figura 3 - Média de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. mucosa* em sete períodos de avaliação.

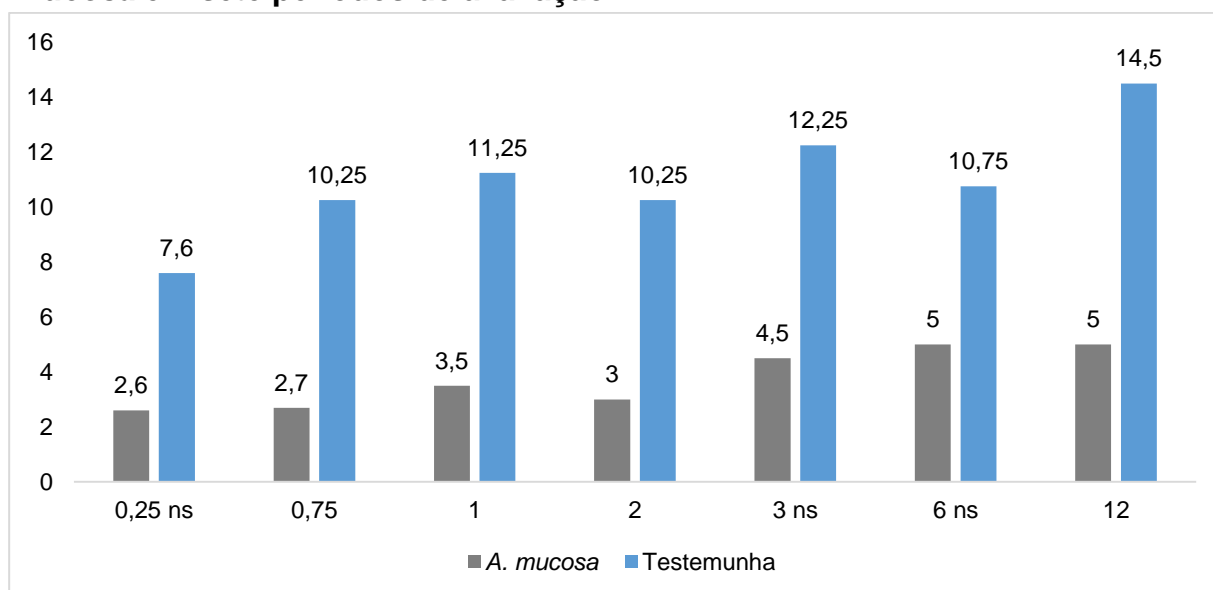


Tabela 7 - Média (\pm EP) de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. mucosa* em sete períodos de avaliação

Tempo (horas)	Treatments	Média adultos (\pm EP)	σ	p value
0,25	<i>A. mucosa</i>	2,6 \pm 0,93 a	2,07	p=0,133
	Testemunha	7,6 \pm 2,84 a	6,35	
0,75	<i>A. mucosa</i>	2,7 \pm 0,85 a	1,71	p=0,004
	Testemunha	10,25 \pm 1,44 b	2,87	
1,0	<i>A. mucosa</i>	3,5 \pm 0,87 a	1,73	p=0,013
	Testemunha	11,25 \pm 2,06 b	4,11	
2,0	<i>A. mucosa</i>	3,0 \pm 1,08 a	2,16	p=0,012
	Testemunha	10,25 \pm 1,75 b	3,5	
3,0	<i>A. mucosa</i>	4,5 \pm 1,71 a	3,42	p=0,106
	Testemunha	12,25 \pm 3,70 a	7,41	
6,0	<i>A. mucosa</i>	5,0 \pm 2,20 a	4,4	p=0,102
	Testemunha	10,75 \pm 2,02 a	4,03	
12,0	<i>A. mucosa</i>	5,0 \pm 0,58 a	1,15	p=0,016
	Testemunha	14,50 \pm 2,78 b	5,57	

EP: erro padrão da média; σ : desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si de acordo com o teste t no nível de probabilidade de 5%.

Com relação ao teste de preferência de infestação com chance de escolha utilizando o extrato de *A. muricata*, verificou-se que em todos os tempos avaliados houve diferença significativa entre a testemunha e a CL₅₀ de *A. muricata*, sendo a testemunha o tratamento com maior infestação. Desta forma, as folhas tratadas com a CL₅₀ de *A. muricata* atingiram sua maior infestação as 12 horas com apenas 5,4 insetos, enquanto a testemunha no mesmo tempo obteve sua maior infestação com 13,4 insetos (Figura 4) (Tabela 8).

Figura 4 - Média de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. muricata* em sete períodos de avaliação.

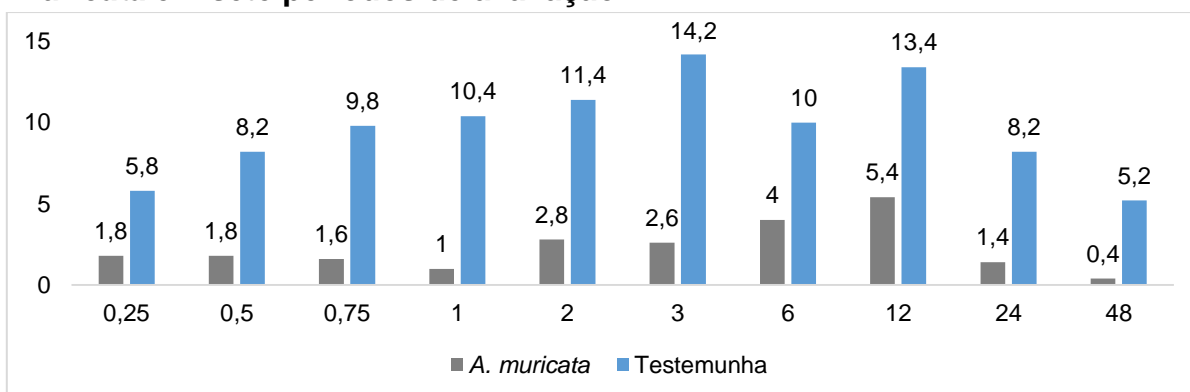


Tabela 8 - Média (\pm EP) de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. muricata* em dez períodos de avaliação

Tempo (horas)	Tratamentos	Média adultos/folha (\pm EP)	σ	
0,25	<i>A. muricata</i>	1,8 \pm 0,66 a	1,48	p=0,002
	Testemunha	5,8 \pm 0,58 b	1,3	
0,50	<i>A. muricata</i>	1,8 \pm 0,37 a	0,84	p=0,001
	Testemunha	8,2 \pm 0,86 b	1,92	
0,75	<i>A. muricata</i>	1,6 \pm 0,81 a	1,82	p=0,001
	Testemunha	9,8 \pm 1,24 b	2,77	
1,0	<i>A. muricata</i>	1,0 \pm 0,55 a	1,22	p=0,001
	Testemunha	10,40 \pm 1,25 b	2,79	
2,0	<i>A. muricata</i>	2,8 \pm 1,24 a	2,77	p=0,001
	Testemunha	11,4 \pm 1,03 b	2,3	
3,0	<i>A. muricata</i>	2,6 \pm 0,51 a	1,14	p=0,001
	Testemunha	14,2 \pm 1,39 b	3,11	
6,0	<i>A. muricata</i>	4,0 \pm 0,55 a	1,22	p=0,035
	Testemunha	10,0 \pm 2,30 b	5,14	
12,0	<i>A. muricata</i>	5,4 \pm 1,40 a	3,13	p=0,007
	Testemunha	13,4 \pm 1,72 b	3,85	
24,0	<i>A. muricata</i>	1,4 \pm 0,40 a	0,89	p=0,001
	Testemunha	8,2 \pm 1,16 b	2,59	
48,0	<i>A. muricata</i>	0,4 \pm 0,24 a	0,55	p=0,009
	Testemunha	5,2 \pm 1,39 b	3,11	

EP: erro padrão da média; σ : desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si de acordo com o teste t no nível de probabilidade de 5%.

Diferenças entre tratamentos nos tempos de 0,5, 0,75, 2, 3, 6 e 24 horas, foram observadas no teste de preferência de infestação com chance de escolha, para *A. sylvatica* com maior infestação na testemunha que em relação a CL₅₀. Desta forma, as folhas tratadas com a CL₅₀ de *A. sylvatica* atingiram sua maior infestação as 6 horas com apenas 4,6 insetos, enquanto a testemunha no mesmo tempo obteve sua maior infestação com 15,2 insetos (Figura 5) (Tabela 9).

Figura 5 - Média de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. sylvatica* em sete períodos de avaliação.

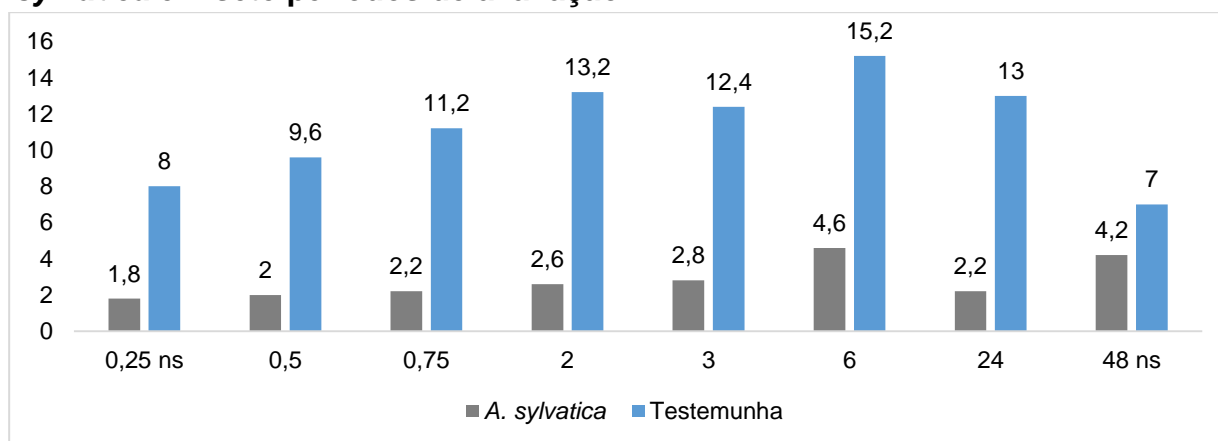


Tabela 9 - Média (\pm EP) de adultos de *T. peregrinus* por folhas tratadas ou não com *A. sylvatica* em oito períodos de avaliação

Tempo (horas)	Tratamentos	Média adultos/folha (\pm EP)	σ	
0,25	<i>A. sylvatica</i>	1,8 \pm 1,07 a	2,39	$p=0,072$
	Testemunha	8,0 \pm 2,79 a	6,24	
0,50	<i>A. sylvatica</i>	2,0 \pm 1,26 a	2,83	$p=0,010$
	Testemunha	9,6 \pm 1,89 b	4,22	
0,75	<i>A. sylvatica</i>	2,2 \pm 0,80 a	1,79	$p=0,006$
	Testemunha	11,2 \pm 2,27 b	5,07	
2,0	<i>A. sylvatica</i>	2,6 \pm 0,87 a	1,95	$p=0,001$
	Testemunha	13,2 \pm 1,46 b	3,27	
3,0	<i>A. sylvatica</i>	2,8 \pm 0,80 a	1,79	$p=0,001$
	Testemunha	12,4 \pm 1,86 b	4,16	
6,0	<i>A. sylvatica</i>	4,6 \pm 0,68 a	1,52	$p=0,001$
	Testemunha	15,2 \pm 1,28 b	2,86	
24,0	<i>A. sylvatica</i>	2,2 \pm 0,49 a	1,09	$p=0,001$
	Testemunha	13,0 \pm 1,67 b	3,74	
48,0	<i>A. sylvatica</i>	4,2 \pm 1,16 a	2,59	$p=0,325$
	Testemunha	7,0 \pm 2,41 a	5,38	

EP: erro padrão da média; σ : desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si de acordo com o teste t no nível de probabilidade de 5%.

1.4 DISCUSSÃO

Com os resultados obtidos neste estudo, os dados permitem comprovar a promissora ação inseticida dos extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*, sobre adultos e ninfas de *T.peregrinus*. A bioatividade dos extratos testados pode ser comparada a ação de inseticidas comerciais registrados para o controle de *T.peregrinus*.

Ao longo do tempo, pesquisadores têm estudado extratos de folhas e sementes de diferentes espécies de Annonaceae, estes são testados em diferentes espécies de insetos, tais como: *Sitophilus zeamais* M. (Coleoptera: Curculionidae), *Zabrotes subfasciatus* B. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) *Spodoptera frugiperda* J.E. (Lepidoptera: Noctuide), *Tuta absoluta* M. (Lepidoptera: Gelechiidae), *Chrysodeixis includens* W. (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* H. (Lepidoptera: Erebidae), *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) e *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) (ANSANTE et al., 2015; BRITO et al., 2019; GONÇALVES et al., 2015; RIBEIRO et al., 2015, 2013; SOARES et al., 2021; SOUZA, 2020).

O extrato etanólico de sementes de *A. mucosa* apresenta ação inseticida sobre o inseto sugador *Diaphorina citri* K. (Hemiptera: Liviidae), com níveis de eficácia superiores aos do bioinseticida à base de limonoide comercial (Azamax®1.2 EC, controle positivo). Resultados semelhantes foram obtidos no presente trabalho, mesmo avaliando sobre *T. peregrinus*, inseto de outra espécie, porém de mesma ordem taxonômica.(RIBEIRO et al., 2015).

Estudos apresentam ação dos extratos etanolicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* para controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), em terceiro instar (SOARES, 2019). Da mesma maneira neste estudo, os três extratos botânicos testados, apresentam potencial inseticida sobre a praga florestal.

Em adultos de *T. peregrinus* os valores de CL₅₀ (5,1, 41,5 e 7,5 mg.L⁻¹) e CL₉₀ (14,4, 127,8 e 19,2 mg.L⁻¹) dos extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* respectivamente, são inferiores aos testes já citados na literatura para outras espécies de insetos. Da mesma forma acontece para ninfas de *T. peregrinus*, CL₅₀ (1,7, 7,3 e 3,6 mg.L⁻¹) e CL₉₀ (5,9, 23,0 e 10,1 mg.L⁻¹) dos extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* respectivamente. Tal como, CL₅₀ do extrato de *A. mucosa* igual a 10,83 mg.L⁻¹ para ninfas de *B. tabaci* biótipo B, CL₅₀ do extrato de *A. mucosa*

igual a 842,9 mg.L⁻¹ para *S. frugiperda*, CL₅₀ do extrato de *A. mucosa* igual a 452,38 mg L⁻¹ para *C. includens* e CL₅₀ do extrato de *A. mucosa* igual a 66,91 mg L⁻¹ para *A. gemmatalis* (ANSANTE et al., 2015; SOARES et al., 2021; SOUZA, 2020).

Estudos demonstram CL₅₀ do extrato etanólico de sementes de *A. mucosa*, para adultos de *D. citri* igual a 2.464,00 mg.L⁻¹ após 48 h de exposição, para ninfas CL₅₀ de 247,95 mg.L⁻¹. Os valores de CL₅₀ apresentados em nosso trabalho, para controle de adultos e ninfas de *T. peregrinus*, também após 48h de exposição é inferior ao apresentado para adultos e ninfas de *D. citri* (RIBEIRO et al., 2015).

Seguindo a linha de bioinseticidas os óleos essenciais também vêm sendo aplicados em testes para controle de pragas. Do mesmo modo que os extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*, foram testados sobre adultos e ninfas de *T.peregrinus* em diferentes concentrações, o óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) também foi testado por meio de folhas de *Eucalyptus dunnii* imersas em diferentes concentrações (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 e 1,25%), e então disponibilizadas para os insetos, sendo as concentrações de 0,75%, 1,00% e 1,25% que apresentaram maiores reduções na sobrevivência de *T.peregrinus*. A CL₅₀ também apresenta porcentagens reduzidas de óleo essencial, assim como no presente estudo, sendo para adultos 0,497% e ninfas 0,178% e óleo essencial de *E. uniflora* (STENGER et al., 2021).

Estudos apontam efeitos de extratos botânicos sobre insetos da ordem Hemiptera, alguns testes foram realizados com extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) sobre adultos da cigarrinha *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae). O extrato de folhas de *P. marcgravii* utilizado em sua CL₅₀ (39,9 mg.ml⁻¹) apresenta um tempo letal médio de 41,2 h, já o extrato de raízes também utilizado em sua CL₅₀ (12,4 mg.ml⁻¹) obteve tempo letal médio de 34,9 h (SILVA et al., 2009). Em nosso trabalho, utilizando extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* para adultos de *T. peregrinus* a concentração de 0,66% que corresponde a 1.332 mg.L⁻¹, apresentou um TL₅₀ de 10, 48 e 12 h respectivamente. *Annona muricata* agiu de forma semelhante aos tratamentos testados por Silva et al., (2009), comparando os TL₅₀.

Neste estudo o tempo letal médio (TL₅₀), foi calculado para adultos e ninfas de *T. peregrinus* em diferentes concentrações. Atualmente existem alguns estudos que avaliam a ação de extratos de Anonáceas e definem TL₅₀, estes testes vêm sendo aplicados principalmente na agricultura, destacando principalmente a ordem

Lepidoptera. O TL₅₀ do extrato de *A. mucosa* para *C. includens* e *A. gemmatalis* foi de 51,01 e 27,23 h, respectivamente, o mesmo extrato quando aplicado sobre *S. frugiperda* e *H. armígera* apresenta TL₅₀ de 32,72 e 45,15 h nessa ordem (ANSANTE et al., 2015; SOUZA et al., 2017; SOUZA, 2020).

Foi possível observar nas folhas que continham a CL₅₀ dos três extratos etanólicos testados, que existiu uma redução pela preferência de infestação dos adultos de *T. peregrinus* quando comparados com a testemunha. Essa preferência foi menor com a CL₅₀ de *A. muricata*, evidenciando o potencial desse extrato para repelir adultos de *T. peregrinus*.

Em ensaios com chance de escolha, utilizando extratos vegetais aquosos a 5% de *Matricaria chamomilla*, *Echinodorus grandiflorus*, *Punica granatum*, *Maytenus ilicifolia* e *Origanum majorana* sobre adultos de *T. peregrinus*. As folhas tratadas com os extratos de *Matricaria chamomilla* e *Maytenus ilicifolia* apresentaram menos deposições fecais quando comparadas aos outros tratamentos e a testemunha, demonstrando assim uma não preferência de *T. peregrinus* por estes tratamentos (HAAS et al., 2016). Em nosso estudo, *A. muricata* foi o único tratamento que apresentou menor preferência de infestação por *T. peregrinus* de forma significativa ao logo de todos os tempos testados. Quanto aos tratamentos de *A. mucosa* e *A. sylvatica* é possível notar que existe uma menor preferência de infestação, mas não se aplica a todos os tempos avaliados, possuindo menor período de repelência.

Os três extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* testados sobre adultos e ninfas de *T. peregrinus*, causaram uma porcentagem de mortalidade superior a 98%. Quando submetidos aos testes de CL₅₀ e CL₉₀ foi concluído que a concentração necessária de cada extrato para controlar 50 e 90% da população, foi abaixo das já descritas em literatura para pragas-agrícolas. A longevidade de adultos e ninfas de *T. peregrinus*, foram reduzidas de forma expressiva quando submetidos a folhas tratadas com *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* sendo aferidas através do TL₅₀. Para a preferência de infestação com chance de escolha, existiu uma preferência pela testemunha, quando comparada aos tratamentos com as CL₅₀ dos extratos de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica*, concluindo-se que os extratos apresentam repelência para adultos de *T. peregrinus*.

A nível mundial já existem produtos comerciais que são produzidos através de extrações realizadas em anonáceas, esta família apresenta uma gama de compostos que ainda necessitam ser explorados (SOARES, 2019), tendo em vista

os extratos testados foi possível observar potenciais de controle e repelência para adultos e ninfas de *T.peregrinus* a nível laboratorial, faz-se necessário pesquisas futuras para avaliação dos mesmos, a nível de semi-campo e campo.

REFERÊNCIAS

- ANSANTE, T. F. et al. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: Screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodeoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 969–976, 2015.
- BARBOSA, L. R. et al. Predação de *Thaumastocoris peregrinus* por Chrysoperla externa. **Comunicado técnico**, n. 257, p. 1–3, 2010.
- BRITO, E. F. DE et al. Growth inhibition, residual contact and translaminar toxicity of Annona -based Bioinsecticides on tomato leafminer: laboratory and greenhouse assessments. **Gesunde Pflanzen**, p. 1–16, 2019.
- CARPINTERO, D. L.; DELLAPÉ, P. M. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae). **Zootaxa**, n. 1228, p. 61–68, 2006.
- CARRANO-MOREIRA, A. F. **Manejo integrado de pragas florestais: fundamentos ecológicos, conceitos e táticas de controle**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2014. 349 p.
- CASTILLO-SÁNCHEZ, L. E.; JIMÉNEZ-OSORNIO, J. J.; DELGADO-HERRERA, M. A. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae And Meliaceae Families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, p. 139–143, 2010.
- EMBRAPA. Pragas de importância econômica. 2010. Disponível em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto_2ed/Pragas_Ordem_Coleoptera.htm>. Acesso em: 08 de out 2020.
- FERNANDEZ-PEREZ, M. FLORES-CESPEDES, F.; DAZA-FERNANDEZ, I. VIDALPENA, F.; VILLAFRANCA-SANCHEZ, M. Lignin and lignosulfonate-based formulations to protect pyrethrins against photodegradation and volatilization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, p. 13557–13564, 2014.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 1971.
- GONÇALVES, G. L. P. et al. Lethal and sublethal toxicities of *Annona sylvatica* (Magnoliales: Annonaceae) extracts to *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 921–928, 2015.
- HAAS, J. et al. Toxicity and repellency of plant extracts on *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero Dellap) (Hemiptera: Thaumastocoridae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 24, p. 2112–2117, 2016.
- JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In : ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.). **Insecticides of plant origin**. Washington: **The American Chemical Society**, 1989. cap.1, p.1-10.

KOUL, O.; WALIA, S. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 049, 2009.

QUEIROZ, Dalva, L. de; BARBOSA, Leonardo, R; Árvore do conhecimento eucalipto – pragas. 2014. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/eucalipto/arvore/CONTAG01_57_191220_0211917.html#>. Acesso em: 06 set 2020.

RIBEIRO, L. D. P. et al. Toxicity of an acetogenin-based bioinsecticide against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) . **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 835–842, 2015.

RIBEIRO, L. P. et al. Comparative bioactivity of selected seed extracts from Brazilian *Annona* species and an acetogenin-based commercial bioinsecticide against *Trichoplusia ni* and *Myzus persicae*. **Crop Protection**, v. 62, p. 100–106, 2014.

RIBEIRO, L. DO P. et al. *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae): A promising source of bioactive compounds against *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 6–14, 2013.

SILVA, W. C. et al. Avaliação do efeito tóxico de extratos de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 2, p. 129–133, 2009.

SMANIOTTO, MÁRCIA, A. et al. Biologia de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em dez espécies de eucalipto. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 679–685, 2017.

SOARES, M. C. E. **BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE ANNONACEAE SOBRE Bemisia tabaci BIÓTIPO B (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) EM TOMATEIRO**. 2019. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2019.

SOARES, M. C. E. et al. Lethal and sublethal effects of *Annona* spp. derivatives on *Bemisia tabaci* MEAM 1 (Hemiptera: Aleyrodidae) in tomato. **Neotropical Entomology**, v. 50, p. 966–975, 2021.

SOUZA, C. M. et al. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 701–709, 2017.

SOUZA, C. M. DE. **BIOATIVIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE SEMENTES DE Annona mucosa Jacq. SOBRE Chrysodeixis includens (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Erebidae)**. 2020. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2020.

STENGER, L. D. et al. Toxicity of essential oil of *Eugenia uniflora* (L.) to *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) and selectivity to the parasitoid *Cleruchoides noackae* (Lin & Hubert) (Hymenoptera: Mymaridae). **Crop Protection**, v. 147, p. 1-8, 2021.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 40–53, 2013.

WILCKEN, C. F. et al. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 201–205, 2010.

WILCKEN, C. F.; BARBOSA, L. R.; SÁ, L. A. N.; ZANUNCIO, J. C. Controle biológico de pragas florestais introduzidas. In: **Controle biológico: com parasitoides e predadores na agricultura brasileira 1ªed.** Piracicaba: FEALQ, 2021. Cap 14, 363.

CAPÍTULO 2

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ANONÁCEAS SOBRE *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae)

RESUMO

Thaumastocoris peregrinus Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) inseto-praga do eucalipto, tem como principal forma de controle o parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae). Este estudo tem por objetivo avaliar a bioatividade dos extratos etanólicos de sementes de *A. muricata* e *A. sylvatica* sobre o parasitoide de ovos *C. noackae*. Os extratos de *A. sylvatica* e *A. muricata* foram aplicados sobre adultos de *C. noackae* nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 12,5 mg.L⁻¹, respectivamente e então avaliados por 24 horas. Os extratos de *A. sylvatica* e *A. muricata* não são seletivos ao parasitoide de ovos pois causam mortalidade destes em até 12 horas após aplicação. Na avaliação pré parasitismo, é possível observar que existe um efeito dos tratamentos sobre o parasitismo, pois não ocorreu emergência de *C. noackae* após a aplicação. No teste de pós parasitismo observou-se que houve emergência de *C. noackae* nas duas testemunhas e nos tratamentos *A. sylvatica* 12,5 mg.L⁻¹, *A. muricata* 12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹. Não existiu emergência de insetos nos tratamentos de *A. sylvatica* 50 mg.L⁻¹ e Capture[®]. Os resultados evidenciam que em testes laboratoriais os extratos apresentam efeito negativo sobre a sobrevivência e a emergência de *C. noackae*.

Palavras-chave: controle biológico; extratos botânicos; parasitoide de ovos; percevejo bronzeado

ABSTRACT

Thaumastocoris peregrinus Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) insect pest of eucalyptus, whose main form of control is the egg parasitoid *Cleruchoides noackae* Lin. and Huber (Hymenoptera: Mymaridae). This study aims to evaluate the bioactivity of ethanol extracts from *A. muricata* and *A. sylvatica* seeds on the egg parasitoid *C. noackae*. The extracts of *A. sylvatica* and *A. muricata* were applied to adults of *C. noackae* at concentrations of 50 mg.L⁻¹ and 12.5 mg.L⁻¹, respectively, and then evaluated for 24 hours. The extracts of *A. sylvatica* and *A. muricata* are not selective to the parasitoid of eggs because they cause mortality within 12 hours after application. In the pre-parasitism evaluation, it is possible to observe that there is an effect of the treatments on the parasitism, since there was no emergence of *C. noackae* after the application. In the post-parasitism test, it was observed that there was emergence of *C. noackae* in the two controls and in the treatments *A. sylvatica* 12.5 mg.L⁻¹, *A. muricata* 12.5 mg.L⁻¹ and 50 mg.L⁻¹. There was no emergence of insects in the treatments of *A. sylvatica* 50 mg.L⁻¹ and Capture®. The results show that in laboratory tests the extracts have a negative effect on the survival and emergence of *C. noackae*.

Keywords: biological control; botanical extracts; egg parasitoid; bronze bug

2.1 INTRODUÇÃO

Dentro da família Mymaridae são encontrados os menores parasitoides de ovos de insetos (HUBER 1986). *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) é um parasitoide de ovos, da família Mymaridae solitário (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007).

Este parasitoide é o principal agente de controle de *Thaumastocoris peregrinus*, sendo detectado inicialmente parasitando os ovos de percevejo bronzeado na Austrália (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007; SOUZA et al., 2016). *Cleruchoides noackae* inviabiliza os ovos do percevejo através da postura de seus ovos no interior dos ovos do percevejo (EMBRAPA, 2010; IPEF, 2010; BARBOSA et al., 2017).

Após os relatos de *C. noackae* utilizando apenas espécies do grupo Taumastocorinae para parasitar, este foi introduzido na América do Sul e África do Sul, no intuito de controlar os surtos de *T. peregrinus* (LIN; HUBER; LA SALLE, 2007; NADEL et al., 2010; NADEL; NOACK, 2012). Este parasitoide foi importado e introduzido no Brasil no ano de 2012, após período de quarentena, este foi produzido para liberações em campo visando controlar populações de *T. peregrinus*. Atualmente, seu estabelecimento em campo é confirmado e com taxas de parasitismo em torno de 50% (BARBOSA et al., 2017).

Em testes de laboratório avaliando a biologia de *C. noackae* observa-se que as fêmeas possuem uma sobrevivência significativamente maior que dos machos (fêmeas 2,0 dias e machos 1,4 dias). O número de descendentes produzidos pode chegar até 16 para cada fêmea, no entanto a média é de 7,7 para quando as fêmeas foram alimentadas com mel. A razão sexual média foi de 1,2: 1,0 (macho: fêmea) (MUTITU et al., 2013).

O comportamento de acasalamento é observado logo após o encontro do macho com a fêmea, a espécie não apresenta comportamento de corte, o acasalamento ocorre após 2 a 5 segundos do encontro. As fêmeas acasaladas, logo após o contato com os ovos do hospedeiro já iniciam o parasitismo. As fêmeas que não tiveram contato com machos apresentaram partenogênese arrenótoca (descendentes machos) (MUTITU et al., 2013).

Novas formas de controle de pragas vêm sendo testadas atualmente, dentre elas pode-se destacar a utilização de extratos botânicos, o qual cresceu de forma expressiva a nível de pesquisa.

Comparado ao uso de produtos fitossanitários sintéticos, os extratos botânicos possuem menor toxicidade para os humanos e ao meio ambiente. Porém estes produtos podem interferir na biologia e na dinâmica dos inimigos naturais (LIMA et al., 2020; PARREIRA et al., 2018; RAMPELOTTI-FERREIRA et al., 2017).

Assim como nos produtos fitossanitários sintéticos, o estudo dos extratos sobre o parasitoide desta praga, faz-se necessário para um melhor entendimento dos potenciais impactos que estes podem causar sobre os parasitoides. Desta forma, este estudo tem por objetivo avaliar a bioatividade dos extratos etanólicos de sementes de *A. muricata* e *A. sylvatica* sobre o parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin. e Huber (Hymenoptera: Mymaridae).

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de ovos de percevejo bronzeado

Os ovos de *Thaumastocoris peregrinus* utilizados nos testes de curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, pré e pós-parasitismo, foram obtidos da criação destes insetos já estabelecida no LCBPF - Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da FCA-UNESP. A criação é mantida em sala climatizada ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $60 \pm 10\%$, fotofase de 12 h), com buquês de ramos do clone 433 (*Eucalyptus urophylla* var. *platyphylla*). Ovos com até um dia de oviposição foram coletados e utilizados nos testes. A metodologia utilizada para a criação é a mesma descrita por Wilcken et al. (2021).

Obtenção do parasitoide *Cleruchoides noackae*

Os indivíduos de *C. noackae* foram obtidos através da criação do LCBPF, condicionados em câmara climatizada tipo B.O.D. (temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h).

A criação de *C. noackae* foi estabelecida a partir de ovos de até três dias de *T. peregrinus* adicionados em frascos de poliestireno transparente (7,0 cm comprimento x 3 cm de diâmetro), estes então são ofertados a casais de *C. noackae* para parasitismo. Para alimentação dos insetos adultos foram oferecidas com tiras de papel de filtro (7,0 cm de altura x 1, cm de largura) embebidas em solução de mel e água a 50%. Após parasitismo e morte dos insetos adultos os frascos são limpos e identificados com a nova quantidade ovos oferecidos e número da geração

correspondente. Passados 15 dias com a emergência da nova geração, o ciclo é novamente repetido (WILCKEN, et al., 2021).

Obtenção dos extratos

Os extratos utilizados nos bioensaios foram obtidos através de uma parceria entre o LCBFP e o Laboratório de Resistência de Plantas à Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI) da FCA-UNESP. Esses extratos foram extraídos de sementes de duas espécies da família Annonaceae: *Annona muricata* L. e *Annona sylvatica* A. St.-H. A preparação dos extratos etanólicos e soluções seguiu a metodologia proposta por Ribeiro et al. (2015) e Brito et al. (2019).

Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier

Para este bioensaio foram utilizados dois tratamentos com extratos botânicos de sementes de *Annona muricata* e *Annona sylvatica*, em duas concentrações (12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹), um inseticida piretroide (Bifentrina Capture 400EC®) e dois controles negativos (água destilada esterilizada e acetona:metanol). Os extratos foram diluídos individualmente em solução de acetona:metanol (1:1, v.v⁻¹) e a solução final 0,14 mL pulverizada sobre placas de Petri (4 cm x 4 cm x 1 cm).

A pulverização dos tratamentos foi realizada por meio de um aerógrafo profissional BD134K com bomba de pressão constrante sob pressão de 0,5 kgf/cm², esta aplicação foi realizada em ambas as partes da placa de petri, após aguardar a secagem por 20 min, foram adicionados dez insetos não sexados e sem alimento de *C. noackae* por placa com auxílio de um pincel fino. Ao seu total foram sete tratamentos com cinco repetições cada, a avaliação foi realizada durante os períodos de 15min, 30min, 45min, 1h, 2h, 3h, 6h, 12h e 24h. O bioensaio foi mantido em câmara climatizada tipo B.O.D a temperatura de 24 ± 2°C, U.R. 60 ± 10% e fotofase de 12 h.

Avaliação pré-parasitismo

Os mesmos tratamentos do teste de curva de sobrevivência de Kaplan-Meier foram testados. Ovos de um dia de *T. peregrinus* foram coletados da criação já estabelecida, através de fitas de papel toalha (1,5 cm de largura x 15,0 cm de comprimento). Foram separados 15 ovos para cada uma das cinco repetições. Ambos os lados de cada uma das fitas contendo os ovos de *T. peregrinus* recebeu

aplicação dos tratamentos individualmente, com volume de pulverização de 0,14 mL de solução final por fita (ponto de escoamento) e posteriormente colocadas em frascos de poliestireno transparente (7,5 cm de altura x 3,0 cm de diâmetro).

Dez minutos após aplicação, cada repetição recebeu dois casais de *C. noackae* recém emergidos para parasitismo, foram alimentados com solução de mel 50% em tiras de papel filtro (7,0 cm de altura x 1,0 cm de largura) e permaneceram parasitando durante 48h e então retirados dos frascos. O bioensaio foi mantido em câmara climatizada tipo B.O.D a temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h. Após 15 dias (período de emergência) foi avaliado a emergência dos parasitoides.

Avaliação pós-parasitismo

O delineamento experimental e o bioensaio foram os mesmos descritos no teste de pré-parasitismo. Após os ovos serem parasitados por um período de 48h os dois casais de *C. noackae* foram retirados e as fitas contendo os ovos receberam aplicação dos tratamentos.

Após 15 dias, foi avaliado a emergência dos parasitoides. O bioensaio foi mantido em câmara climatizada tipo B.O.D a temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Análises estatísticas

A curva de sobrevivência de Kaplan-Meier do parasitoide *C. noackae* submetido a diferentes tratamentos, foi obtida através do software SigmaPlot 11.0.

Os dados dos testes de pré e pós-parasitismo de *C. noackae* foram submetidos aos pressupostos dos testes de normalidade e homogeneidade da variância, com os testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. A distribuição desses dados não foi normal, por isso, utilizou-se estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis, com valores binários, sendo classificado a emergência (1) ou não (0) de parasitoides por repetição, para estes testes foi utilizado o software estatístico SPSS Statistics 20.

Aplicação pré-parasitismo

No teste de aplicação pós parasitismo existiu diferença significativa entre a testemunha com água destilada esterilizada e os tratamentos *A. muricata* e *A. sylvatica* (12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹) e Capture®. A testemunha com solvente, não diferiu daquela com água destilada esterilizada e dos demais tratamentos. O teste mostra que existe um efeito dos tratamentos sobre o pré-parasitismo (Tabela 1).

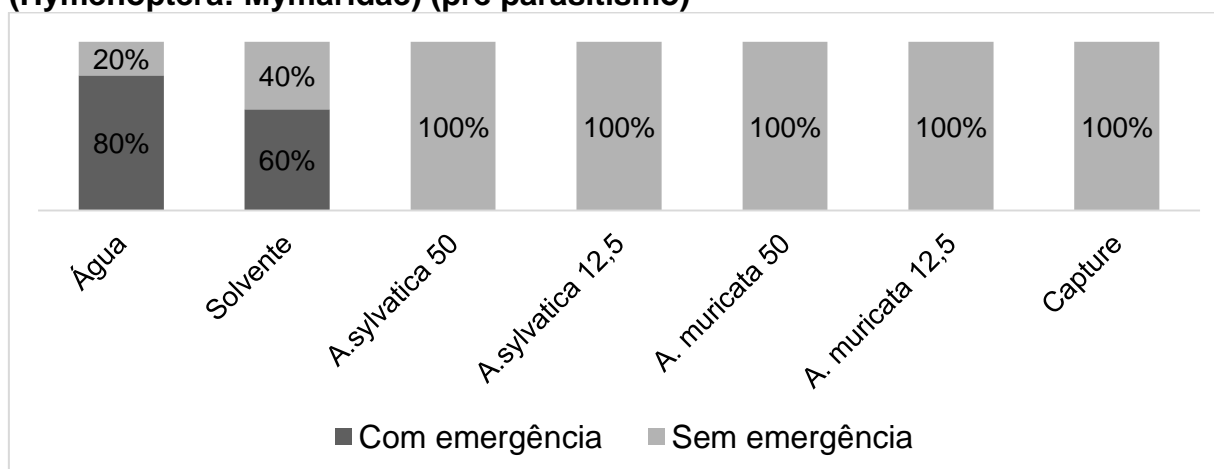
Tabela1 – Aplicação de extratos de *A. muricata* e *A. sylvatica* (12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹), inseticida piretroide (Bifentrina (Capture 400EC®), água destilada esterilizada e solvente (acetona:metanol) em *C. noackae* . Nas condições de 24 ± 2 °C, 70 ± 10% UR e fotofase de 12 h.

Teste Estatístico ^{a, b}	Pré-parasitismo
Qui quadrado	21,857
df	6
p	0,001

a. Teste Kruskal Wallis, b. Variável de agrupamento: Tratamento

Com relação ao percentual de repetições com emergência de adultos de *C. noackae*, observou-se que as testemunhas foram os únicos tratamentos que apresentaram taxa de emergência do inseto. Já para os tratamentos com *A. muricata* e *A. sylvatica* (12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹) e o inseticida piretroide (Bifentrina (Capture 400EC®) não apresentou emergência de *C. noackae*.

Figura 2 - Percentual de repetições com emergência de *C. noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (pré parasitismo)



Com base na metodologia aplicada, os resultados obtidos para as testemunhas, água destilada esterilizada e solvente foram iguais e não tóxicos. Os extratos botânicos e o produto fitossanitário Capture® utilizados apresentaram efeito negativo na sobrevivência e emergência de *C. noackae*.

Aplicação pós-parasitismo

No teste de aplicação pós-parasitismo não existiu diferença significativa entre os tratamentos avaliados. O teste mostra que não existe um efeito dos tratamentos sobre o pós-parasitismo (Tabela 2).

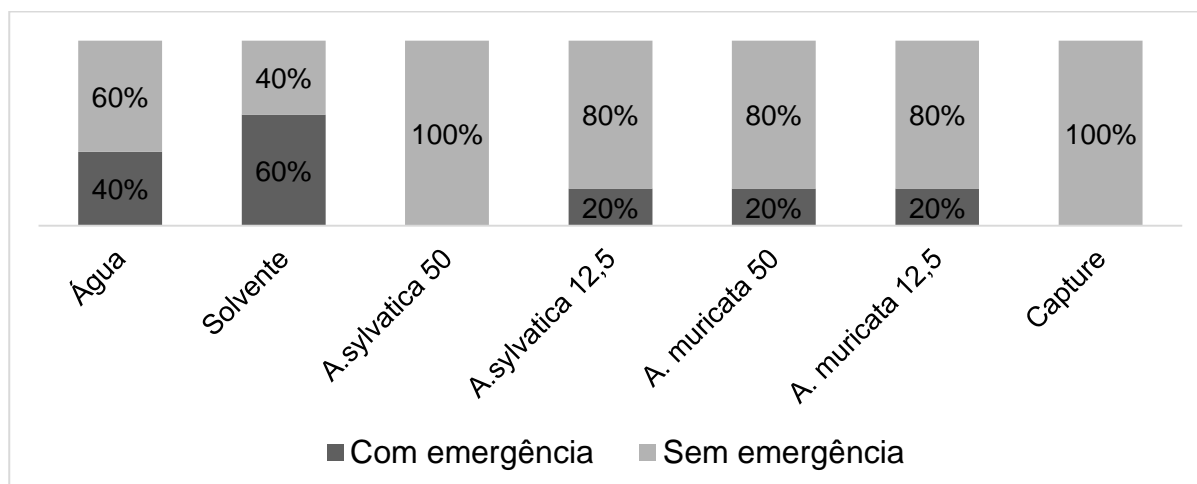
Tabela 2 - Aplicação de extratos de *A. muricata* e *A. sylvatica* (12,5 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹), inseticida piretroide Bifentrina (Capture®), água destilada esterilizada e solvente (acetona:metanol) em *C. noackae* a 24 ± 2 °C, 70 ± 10% UR e fotofase de 12 h

Teste Estatístico ^{a, b}	Pós-parasitismo
Qui quadrado	7,556
df	6
p	0,273

a. Teste Kruskal Wallis, b. Variável de agrupamento: Tratamento

Com relação ao percentual de repetições com emergência de adultos de *C. noackae*, observou-se que não houve emergência de parasitoides dos ovos de *T. peregrinus* que foram pulverizados com os tratamentos *A. sylvatica* 50 mg.L⁻¹ e Capture®. Nos demais tratamentos existiu emergência de *C. noackae*.

Figura 3 - Porcentual de repetições com emergência de *C. noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (pós-parasitismo)



2.4 DISCUSSÃO

Os extratos etanólicos de sementes de *A. sylvatica* e *A. muricata* afetam a emergência de *C. noackae* em teste de pré-parasitismo e pós-parasitismo. Alguns estudos também avaliam a aplicação de extratos botânicos aquosos de *Matricaria chamomilla*, *Maytenus ilicifolia* e *Echinodorus grandiflorus* a 5% sobre *C. noackae*. Tanto nos testes de pré-parasitismo e pós-parasitismo os extratos aquosos utilizados não afetam a viabilidade de *C. noackae*, ou seja, nenhum dos extratos vegetais causou qualquer efeito prejudicial em *C. noackae* sob condições de laboratório, diferindo dos resultados encontrados quando aplicados extratos de *A. sylvatica* e *A. muricata* sobre *C. noackae* (HAAS et al., 2018b).

Na agricultura, a busca por novas alternativas no controle de pragas está mais avançada, da mesma maneira se faz para a seletividade de parasitoides, predadores e organismos não-alvo. Estudos avaliaram a ação do extrato *Annona crassiflora*, sobre o parasitoide de ovos *Trissolcus urichi* C. (Hymenoptera: Platygasteridae) nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,0% e 4,0%. Da mesma maneira que neste trabalho, o extrato de *A. crassiflora* reduziu o parasitismo em concentrações superiores a 0,5% quando aplicado em ovos não parasitados (pré-parasitismo) e quando aplicado em ovos parasitados (pós-parasitismo), não afetou os estágios de desenvolvimento do parasitoide, indicando seletividade dos extratos (TURCHEN et al., 2014).

Apesar de existirem muitos estudos sobre a aplicação de plantas inseticidas no controle de pragas, existem poucos estudos que estabelecem uma ligação entre os produtos químicos da planta hospedeira e redução da capacidade do parasitoide. Poucos estudos mostram que o desenvolvimento dos parasitoides são afetados pelos aleloquímicos das plantas (ODE, 2006).

Os extratos de *Echinodorus grandiflorus*, *Maytenus ilicifolia* e *Matricaria chamomilla* apresentam em sua composição ácidos gálico, vanílico, cafeico, cumarico e ferúlico como metabólitos secundários. Estes compostos podem ser considerados antialimentantes e tóxicos para insetos (EMILIE et al., 2015; HAAS et al., 2016; RANI; PRATYUSHA, 2013).

A família botânica Annonaceae tem despertado interesse de pesquisadores, devido apresentar um grande potencial inseticida sobre insetos-praga. Dentre as classes de metabólitos secundários destaca-se as acetogeninas que podem desencadear uma série de atividades biológicas (MCLAUGHLIN et al., 1997;

OCAMPO; OCAMPO, 2006; (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). Desta forma podemos citar a aplicação de derivados de Annonaceae, sobre alguns parasitoides e predadores como: *T. urichi* (TURCHEN et al., 2014), *Cryptolaemus montrouzieri* M. (Coleoptera:Coccinellidae) (MORAES, 2020) e neste estudo *C. noackae*.

Nossos resultados evidenciam que não existe emergência de *C. noackae* em teste de pré-parasitismo apenas uma reduzida porcentagem em pós-parasitismo. No entanto, esses experimentos foram conduzidos em condições de laboratório, desta forma é necessário a condução de experimentos a nível de semi-campo e campo, pois fatores bióticos e abióticos podem trazer interferências e influenciar no resultado.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. R. et al. Establishment in the field of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an exotic egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Florida Entomologist**, v. 100, n. 2, p. 372–374, 2017.
- BRITO, E. F. DE et al. Growth inhibition , residual contact and translaminar toxicity of Annona -based bioinsecticides on tomato leafminer : laboratory and greenhouse assessments. **Gesunde Pflanzen**, p. 1–16, 2019.
- EMBRAPA. Pragas de importância econômica. 2010. Disponível em:<
http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto_2ed/Pragas_Ordem_Coleoptera.htm >. Acesso em: 08 de out 2020.
- EMILIE, D. et al. Behavioral response of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to 20 plant extracts. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 4, p. 1890–1901, 2015.
- HAAS, J. et al. Toxicity and repellency of plant extracts on *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero Dellap) (Hemiptera: Thaumastocoridae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 24, p. 2112–2117, 2016.
- HAAS, J. et al. Toxicity assessment of plant extracts to *Cleruchoides noackae* Lin and Huber (Hymenoptera: Mymaridae). **Agroforestry Systems**, v. 93, n. 4, p. 1297–1305, 2018.
- IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. PROTEF realiza importação de inimigo natural de praga do eucalipto. 2010. Disponível em:
<<http://www.ipef.br/ipefexpress/nr015.htm>>. Acesso em: 25 jun 2019.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. SPEC. EDITION 1, p. 225–242, 2014.
- LIMA, A. P. S. et al. Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. **Crop Protection**, v. 136, p. 105230, 2020.
- LIN, N. Q.; HUBER, J. T.; LA SALLE, J. The Australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Zootaxa**, n. 1596, p. 1-111, 2007.
- MCLAUGHLIN, J. L. et al. Annonaceous acetogenins as new natural pesticides: recent progress. **Journal of American Chemical Society**, v. 9, p. 117-133, 1997.
- MORAES, F. E. M. DE. **Seletividade dos extratos etanólicos de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. (Annonaceae) sobre o predador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853 (Coleoptera:Coccinellidae)**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2020.

MUTITU, E. K. et al. Biology and Rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an Egg Parasitoid for the Biological Control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979–1985, 2013.

NADEL, R. L. et al. DNA bar-coding reveals source and patterns of *Thaumastocoris peregrinus* invasions in South Africa and South America. **Biological Invasions**, v. 12, n. 5, p. 1067–1077, 2010.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 257–266, 2012.

OCAMPO, D.; OCAMPO, R. Bioactividad de la familia Annonaceae. **Revista Universidad Caldas**, v. 1, p. 135-155, 2006.

ODE, P. J. Plant chemistry and natural enemy fitness: Effects on herbivore and natural enemy interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 163–185, 2006.

PARREIRA, D. S. et al. Essential oils cause detrimental effects on biological parameters of *Trichogramma galloi* immatures. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 2, p. 887–895, 2018.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T. et al. Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 78–82, 2017.

RANI, U. P.; PRATYUSHA, S. Defensive role of *Gossypium hirsutum* L. anti-oxidative enzymes and phenolic acids in response to *Spodoptera litura* F. feeding. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 16, n. 2, p. 131–136, 2013.

RIBEIRO, L. D. P. et al. Toxicity of an acetogenin-based bioinsecticide against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 835–842, 2015.

SOUZA, A. R. DE et al. Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 33–37, 2016.

TURCHEN, M. L. et al. Selectivity of *Annona* (Annonaceae) extract on egg parasitoid *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 40, n. 2, p. 176–180, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pesquisas utilizando extratos botânicos para o controle de pragas agrícolas é maior quando comparadas com pragas florestais. Alguns estudos iniciais utilizando extratos botânicos em insetos-praga florestais têm mostrado o potencial inseticida destes produtos, incluindo *T. peregrinus*.

Os extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* apresentaram potencial inseticida e repelente para adultos e ninfas de *T. peregrinus*. Os mesmos extratos ainda quando testados em baixas concentrações causam mortalidade de *T. peregrinus*.

Os resultados obtidos dos extratos etanólicos de sementes de *A. mucosa*, *A. muricata* e *A. sylvatica* sobre *T. peregrinus* são inéditos, e estes resultados se mostram tão promissores quanto ao uso do inseticida químico sintético, já registrado, utilizado no controle de *T. peregrinus*.

Quando avaliados os extratos de *A. muricata* e *A. sylvatica* sobre o parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* em condições de laboratório, observa-se uma reduzida emergência de insetos apenas no teste de pós-parasitismo. Destacando que os testes foram realizados em condições de laboratório, onde existe uma pressão maior dos extratos sobre o inseto.

Desta forma, dada a importância das plantas inseticidas no controle de insetos-praga, novos testes podem ser realizados em condições de semi-campo e campo, tanto para *T. peregrinus* quanto para outras pragas florestais. Importante destacar que segundo as normas de IOBC, trabalhos de semi-campo e campo devem ser realizados para a confirmação da classificação dos princípios ativos utilizados e ressalta-se a importância destes testes também para outros organismos não alvo.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. R. et al. Predação de *Thaumastocoris peregrinus* por *Chrysoperla externa*. **Comunicado Técnico**, n. 257, p. 1–3, 2010.
- BARBOSA, L. R. et al. Establishment in the field of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an exotic egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Florida Entomologist**, v. 100, n. 2, p. 372–374, 2017.
- BARBOSA, L. R. et al. Development of *Cleruchoides noackae*, an egg-parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus*, in eggs laid on different substrates, with different ages and post-cold storage. **BioControl**, v. 63, n. 2, p. 193–202, 2018.
- BARBOSA, L. R. et al. Biological parameters, life table and thermal requirements of *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) at different temperatures. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2019.
- CARPINTERO, D. L.; DELLAPÉ, P. M. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae). **Zootaxa**, n. 1228, p. 61–68, 2006.
- CARRANO-MOREIRA, A. F. **Manejo integrado de pragas florestais: fundamentos ecológicos, conceitos e táticas de controle**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2014. 349 p.
- CASTILLO-SÁNCHEZ, L. E.; JIMÉNEZ-OSORNIO, J. J.; DELGADO-HERRERA, M. A. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, p. 139–143, 2010.
- EMBRAPA. Pesquisas da Embrapa Rondônia revelam potencial do estado para a eucaliptocultura. 2012. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/en/busca-denoticias/-/noticia/1480998/pesquisas-da-embrapa-rondonia-revelam-potencial-doestado-para-a-eucaliptocultura>>. Acesso em: 06 out. 2019.
- EMBRAPA. Pragas de importância econômica. 2010. Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto_2ed/Pragas_Ordem_Coleoptera.htm>. Acesso em: 08 de out 2020.
- FERNANDEZ-PEREZ, M. FLORES-CESPEDES, F.; DAZA-FERNANDEZ, I. VIDALPENA, F.; VILLAFRANCA-SANCHEZ, M. Lignin and lignosulfonate-based formulations to protect pyrethrins against photodegradation and volatilization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 35, p. 13557–13564, 2014.
- HAAS, J. et al. Toxicity assessment of plant extracts to *Cleruchoides noackae* Lin and Huber (Hymenoptera: Mymaridae). **Agroforestry Systems**, v. 93, n. 4, p. 1297–1305, 2018a.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. 2021. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorioiba2021-compactado.pdf>>. Acesso em: 01 de Jan 2022.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. 2020. Disponível em: <<https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>>. Acesso em: 12 de Jul 2020.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. 2017. Disponível em: <http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2019.

IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. PROTEF realiza importação de inimigo natural de praga do eucalipto. 2010. Disponível em: <<http://www.ipef.br/ipefexpress/nr015.htm>>. Acesso em: 25 jun 2019.

IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. Ocorrência do Psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto no Brasil. 2003. Disponível em: <<http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/3823/ipef-circular tecnica-2003-dezembro-n-201.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 25 jun 2019.

JACOBS, D. H.; NESSER, S. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South África, damaging to Eucalyptus trees. **South African Journal of Science**, v. 101, p. 233–236, 2005.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In : ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.). Insecticides of plant origin. Washington: **The American Chemical Society**, 1989. cap.1, p.1-10.

KOUL, O.; WALIA, S. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 049, 2009.

LIN, N. Q.; HUBER, J. T.; LA SALLE, J. The Australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Zootaxa**, v. 1596, p. 1-111, 2007.

LORENCETTI, GRASIELLE, ADRIANE, T. et al. Record of *Thaumastocoris peregrinus* in the southwest region of Paraná state, Brazil. **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 3, p. 434–436, 2015.

MUTITU, E. K. et al. Biology and Rearing of *Cleruchoidea noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for the biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979–1985, 2013.

NADEL, R. L. et al. DNA bar-coding reveals source and patterns of *Thaumastocoris peregrinus* invasions in South Africa and South America. **Biological Invasions**, v. 12, n. 5, p. 1067–1077, 2010.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 257–266, 2012.

NOACK, A. E.; CASSIS, G.; ROSE, H. A. Systematic revision of *Thaumastocoris* Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae). **Zootaxa**, v. 3121, n. 1, p. 1–60, 7 dez. 2011.

NOACK, A. E.; COVIELLA, C. E. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first record of this invasive pest of Eucalyptus in the Americas. **General and Applied Entomology**, v. 35, p. 2, 2006.

PEREIRA, J. M. et al. Ocorrência de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 43, n. 2, p. 254–257, 2013.

QUEIROZ, Dalva, L. de; BARBOSA, Leonardo, R; Árvore do conhecimento eucalipto – pragas. 2014. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/eucalipto/arvore/CONTAG01_57_1912200211917.html#>. Acesso em: 06 set 2020.

RIBEIRO, L. D. P. et al. Toxicity of an Acetogenin-Based Bioinsecticide Against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its Parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) . **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 835–842, 2015.

SALIBA, I. L. et al. First record of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera, thaumastocoridae) in Pará state, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 49, n. 3, p. 179–182, 2019.

SAVARIS, M. et al. Primeiro registro de *Thaumastocoris peregrinus* para o estado de Santa Catarina, e novas áreas de ocorrência para o Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1874–1876, 2011.

SMANIOTTO, MÁRCIA, A. et al. Biologia de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em dez espécies de eucalipto. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 679–685, 2017.

SOLIMAN, E. P. **Bioecologia do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em eucalipto e prospecção de inimigos naturais**. 2010, 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010.

SOLIMAN, E. P. et al. Biology of *Thaumastocoris peregrinus* in different eucalyptus species and hybrids. **Phytoparasitica**, v. 40, n. 3, p. 223–230, 2012.

SOUZA, C. M. et al. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 701–709, 2017.

SOUZA, A. R. DE et al. Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 33–37, 2016.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 40–53, 2013.

WILCKEN, C. F. et al. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 201–205, 2010.